

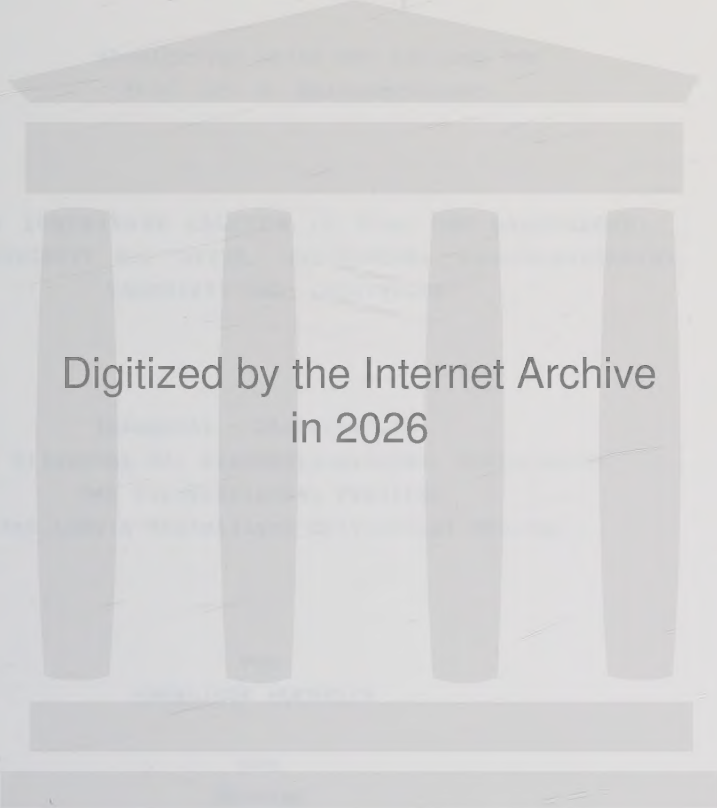
DAS IONISIERTE CALCIUM
IM BLUT DES HAUSHUHNES:
ABHÄNGIGKEIT VON ALTER,
GESCHLECHT, NAHRUNGS-AUFNAHME,
TAGESZEIT UND LEGEZYKLUS

Anneliese Hofmeier

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. M. Merckenschlager

**DAS IONISIERTE CALCIUM IM BLUT DES HAUSHUHNES:
ABHÄNGIGKEIT VON ALTER, GESCHLECHT, NAHRUNGS-AUFNAHME,
TAGESZEIT UND LAGEZYKLUS**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
ANNELIESE HOFMEIER

aus
München

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. M. Merckenschlager

Korreferent: Prof. Dr. J. Kösters

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	4
2.1. BESONDERHEITEN DES CALCIUMSTOFFWECHSELS BEIM HAUSHUHN	4
2.1.1. Die Calciumbindung an Proteine im Blut	4
2.1.2. Die Kalkschalenbildung des Eies	7
2.1.2.1. Die Calciumbereitstellung für die Eischalenbildung	7
2.1.2.2. Der Ursprung des Carbonates für der Eischalenbildung	8
2.1.3. Das Auftreten und die Funktion des medullären Knochens	9
2.1.4. Die Regulation des Calciumstoffwechsels	9
2.1.4.1. Parathormon	9
2.1.4.2. Calcitonin	10
2.1.4.3. Vitamin D ₃	11
2.1.4.4. Östrogene	11
2.2. METHODEN ZUR BESTIMMUNG DES GESAMTCALCIUMS UND DES IONISIERTEN CALCIUMS IM BLUT	12
2.2.1. Gesamtcalcium	12
2.2.2. Ionisiertes Calcium	13
2.3. PHYSIOLOGISCHE WERTE IM BLUT DES HAUSHUHNS: VERGLEICH VON LITERATURDATEN BEZÜGLICH IONISIERTEM CALCIUM, GESAMTCALCIUM, GESAMTPROTEIN, pH UND KOHLENDIOXIDPARTIALDRUCK	14
2.4. TECHNIK FÜR SERIEN-BLUTENTNAHMEN AUS DEM ARTERIELLEN UND VENÖSEN SYSTEM DES KREISLAUFES BEIM HAUSHUHN	18

	Seite
2.5. METHODISCHE FAKTOREN, DIE DIE CALCIUMKONZENTRA- TION EINER BLUTPROBE BEEINFLUSSEN	22
2.5.1. Probengewinnung	22
2.5.1.1. Blutentnahmestreß	22
2.5.1.2. Blutentnahmeort	23
2.5.1.3. Blutentnahme-Stauung	26
2.5.1.4. Blutentnahme-anaerob	26
2.5.1.5. Antikoagulantien	27
2.5.2. Probenbehandlung	29
2.5.2.1. Transport und Lagerung	29
2.5.2.2. Äquilibrierung	30
 2.6. PHYSIOLOGISCHE FAKTOREN, DIE BEIM HAUSHUHN DEN IONISIERTEN CALCIUMSPIEGEL DES BLUTES BEEIN- FLUSSEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DEM GESAMTCALCIUM- UND GESAMTPROTEINGEHALT, DEM pH-WERT UND DEM KOHLENDIOXIDPARTIALLDRUCK	31
2.6.1. Alter	31
2.6.2. Geschlecht	33
2.6.3. Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung	34
2.6.4. Legezyklus	37
2.6.5. Säure-Basen-Status	40
2.6.6. Tageszeit	43
2.6.7. Rasse, Umgebungstemperatur, Jahreszeit	45
 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	47
3.1. M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	47
3.1.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen	47
3.1.2. Blutentnahmetechniken	47
3.1.2.1. Gefäßpunktion	47
3.1.2.2. Katheterisierung von Gefäßen	47
3.1.3. Versuchsplanung und Versuchsdurchführung	50
3.1.3.1. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängig- keit vom Alter der Tiere	51

	Seite
3.1.3.2. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit vom Geschlecht	51
3.1.3.3. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme	51
3.1.3.4. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit vom Legezyklus	52
3.1.3.5. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Tageszeit	52
3.1.4. Verfahren zur Standardisierung von Probengewinnung und Probenbehandlung	53
3.1.4.1. Vergleich von Katheterblut und Punktionsblut	53
3.1.4.2. Transport und Lagerung von Vollblutproben	53
3.1.4.3. Gewinnung und Lagerung von Plasma	53
3.1.4.4. Tonometrie	54
3.1.5. Arten der Probenanalyse	55
3.1.5.1. Bestimmung des Säure-Basen- und Blutgas-Status	55
3.1.5.2. Bestimmung des ionisierten Calciums	56
3.1.5.3. Bestimmung des Gesamtcalciums	57
3.1.5.4. Bestimmung des Gesamtproteins	57
3.1.6. Statistische Auswertung der Resultate	58
 3.2. E R G E B N I S S E	 59
3.2.1. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration im Blut von verschiedenen methodischen Faktoren	59
3.2.1.1. Auswirkungen verschiedener Blutentnahmetechniken auf die Calciumionenkonzentration, den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt, den pH-Wert und den Kohlendioxidpartialdruck des venösen Blutes	59
3.2.1.2. Einfluß der Lagerung von Vollblutproben unter verschiedenen Temperaturbedingungen	61
3.2.1.3. Gesamtcalcium- und Gesamtproteinkonzentration in frischem und tiefgefroren gelagertem Plasma	63

	Seite
3.2.1.4. Verhalten der Konzentration des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration unter in vitro-Bedingungen	65
3.2.2. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration im Blut von verschiedenen physiologischen Faktoren bei Berücksichtigung der Gesamtcalcium-, Gesamtprotein- und Wasserstoffionenkonzentration und des Kohlendioxidpartialdruckes	65
3.2.2.1. Konzentration des ionisierten Calciums im arteriellen und venösen Blut	65
3.2.2.2. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom Alter der Tiere	70
3.2.2.3. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom Geschlecht	72
3.2.2.4. Einfluß der Nahrungsaufnahme auf den ionisierten Calciumspiegel	75
3.2.2.5. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom Legezyklus	77
3.2.2.6. Auswirkungen der Tageszeit auf den ionisierten Calciumspiegel	83
4. DISKUSSION	88
5. ZUSAMMENFASSUNG	108
SUMMARY	110
6. LITERATURVERZEICHNIS	112

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Calcium ist ein wesentliches Element des Organismus und essentieller Bestandteil unserer Nahrung. Es spielt eine wichtige Schlüsselrolle in vielen physiologischen und biochemischen Prozessen, wie z.B. bei der Mineralisation der Knochen, der Blutgerinnung, der Zellmembranstabilisierung, der neuromuskulären Erregungsübertragung, der Muskelkontraktion, der Aktivierung bzw. der Hemmung von Enzymen und Hormonen sowie dem Wachstum und der Entwicklung von Zellen.

Bei Säugetieren sind etwa 99% des Körpercalciums im Skelett lokalisiert und nur ca. 1% verteilt sich auf den Intra- und Extrazellulärraum.

Für Vögel gilt dieses jedoch nicht, da sie verkalkte Eischalen bilden und sich ca. 9% des Körpercalciums zumindest zeitweise in der Eischale befinden (TAYLOR, 1965).

Da die Blutkörperchen sehr wenig Calcium enthalten, liegt das gesamte Calcium im Blut im Plasma vor, und zwar in drei Fraktionen.

1. Als proteingebundenes, nicht diffusibles Calcium:

Im Gegensatz zu Säugetieren, bei denen Calcium überwiegend an Albumin gebunden wird, ist die Calciumbindung an Plasmaproteine beim Haushuhn stark abhängig von dem Alter und von dem Geschlecht der Tiere. Bei der erwachsenen Legehenne wird der Großteil der nicht diffusiblen Calciumfraktion an Vitellogenin, ein Phospholipoprotein gebunden (GUYER et al., 1978,1980; GRUNDER et al., 1980a,b) (siehe 2.1.1.).

2. Als komplexgebundenes, diffusibles Calcium:

Dieser Anteil ist beim Geflügel sehr gering und beträgt etwa $0,15 \text{ mmol.l}^{-1}$. Neben dem Citrat-Calcium, das für den



Knochenstoffwechsel besonders wichtig ist , kommen noch andere kleine anorganische und organische Moleküle für die Komplexbildung in Betracht, wie z.B. Sulfate, Phosphate und Bicarbonat.

3. Als freies, ionisiertes, diffusibles Calcium:

Das ionisierte Calcium stellt die physiologisch aktivste Komponente dar und deshalb ist die Aufrechterhaltung des Blutspiegels innerhalb bestimmter Grenzen äußerst wichtig. Bei der Legehenne unterliegt der ionisierte Calciumspiegel wegen der Eischalenbildung Schwankungen, die bei Säugetieren nicht beobachtet werden (LUCK and SCANES, 1979a, PARSONS and COMBS, 1981).

Es besteht ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der ionisierten und der proteingebundenen Calciumfraktion des Blutes (WINGET and SMITH, 1959; TAYLOR and HERTELENDY, 1961; HURWITZ, 1968). Dieses ist abhängig vom pH-Wert des Blutes (GIRNDT et al., 1979; ODOM et al., 1986), der Plasmaproteinkonzentration und der Bindungsaffinität der Proteine (MOORE, 1970). Die Bestimmung des Gesamtcalciumspiegels ohne entsprechende Schätzung des Ionisationsgrades läßt keine Aussage über den Calciumstatus eines Individuums zu (LADENSON and BOWERS, 1973; PASCHEN, 1975).

Die direkte und präzise Messung der Calciumionenkonzentration ist jedoch erst mit der Einführung der ionenselektiven Elektroden in den 60er Jahren möglich geworden.

Speziell für das Haushuhn (*Gallus domesticus*) liegen nur vereinzelte Untersuchungen über den ionisierten Calciumspiegel im Blut vor, obwohl es wegen der Kalkschalenbildung des Eies und den daraus resultierenden Besonderheiten der Calciumhomöostase großes wissenschaftliches Interesse findet. Die Erforschung des Calciumstoffwechsels ist auch aus wirtschaftlichen Gesichtspunkten (Legeleistung, Eischalenqualität, Calciummangelerkrankungen) von Bedeutung.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit folgenden Schwerpunkten:

- Erarbeitung einer Technik für Serien-Blutentnahmen aus dem arteriellen und venösen Schenkel des Kreislaufes beim Haushuhn und Untersuchung der Auswirkungen zweier verschiedener Blutentnahmetechniken auf die Konzentration der Calcium- und Wasserstoffionen, den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt und den Kohlendioxidpartialdruck des Blutes.
- Untersuchung des Einflusses der Lagerung von Vollblut- und Plasmaproben auf die Konzentration des ionisierten Calciums bzw. des Gesamtcalciums.
- Bestimmung des ionisierten Calciumspiegels im arteriellen und venösen Blut des Haushuhnes in Abhängigkeit von dem Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt und dem Säure-Basen- und Blutgasstatus unter Berücksichtigung
 1. des Alters der Tiere
 2. des Geschlechts
 3. der Nahrungsaufnahme
 4. des Legezyklus und
 5. der Tageszeit.
- Untersuchung des Verhaltens der Calciumionenkonzentration in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration unter in vitro-Bedingungen.
- Untersuchung der Abhängigkeit zwischen dem Gesamtcalcium und dem ionisierten Calcium im Blut unter verschiedenen physiologischen Bedingungen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. BESONDERHEITEN DES CALCIUMSTOFFWECHSELS BEIM HAUSHUHN

Neben den Funktionen, die Calcium bei Säugetieren erfüllt, spielt es beim Huhn eine wichtige Rolle bei der Eischalenbildung. Aus diesem Grund werden spezielle Calciumdepots in den Knochen ausgebildet und sowohl der Calciumtransport im Blut als auch die Regulation der Calciumhomöostase unterscheiden sich von denen der Säugetiere.

2.1.1. Die Calciumbindung an Proteine im Blut

Das Blut hat speziell beim Huhn wegen der Eibildung eine sehr wichtige Transportfunktion. Sowohl das Calcium für die Mineralisation der Eischale als auch die Proteine und Lipide für den Dotter, die in der Leber synthetisiert werden, werden im Blut zum Ovar und zum Eileiter transportiert.

Die Bindung von Calciumionen an Serumproteine erfolgt an die Carboxyl- oder Imidazolgruppen der Proteine und ist pH abhängig. Eine Acidose führt zu einer geringeren Dissoziation dieser schwach sauren Gruppen, so daß weniger Calcium gebunden werden kann. Im Gegensatz dazu bewirkt eine Alkalose eine vermehrte Bindung von Calciumionen an die Plasmaproteine (TAYLOR and HERTELENDY, 1961). Änderungen der Proteinkonzentration des Blutes führen zu einer entsprechenden Änderung der Konzentration an freien Calciumionen.

HURWITZ (1968) vermutete das Vorhandensein eines "slowly-exchanging"-Kompartimentes in der proteingebundenen Calciumfraktion des Plasmas von Legehennen in einer Größenordnung von $1,07 \text{ mmol.l}^{-1}$ bei einem Gesamtcalciumgehalt von $7,24 \text{ mmol.l}^{-1}$. Die Austauschrate betrug $0,02 \text{ mmol.l}^{-1}$ Calcium pro Minute. Im Plasma von Hähnen trat dies nicht auf.

Die Dissoziation des Calcium-Protein-Komplexes im Plasma von Legehennen folgt dem Massenwirkungsgesetz ohne Einwirkung von Enzymen. Die Dissoziationskonstante beträgt $10^{-1,1}$ (WINGET and SMITH, 1959).

Die Wirkungen unterschiedlicher Wasserstoffionen- und Natriumchloridkonzentrationen auf die Dissoziation von protein-gebundenem Calcium wurden von WINGET und SMITH (1959) unter in vitro-Bedingungen untersucht. Bei einer konstanten Gesamtcalciumkonzentration des Plasmas von $5,9 \text{ mmol.l}^{-1}$ erhöhte sich der Ionisationsgrad des Calciums sowohl durch Zusatz von NaCl zum Plasma als auch durch Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration. Bei physiologischen pH-Werten war die Calciumionenkonzentration am geringsten (siehe Abb. 1).

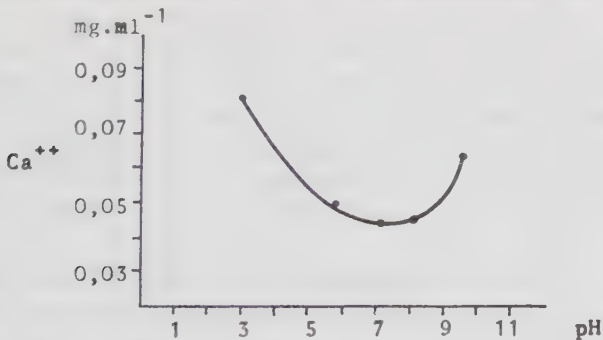


Abb. 1: Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Dissoziation von proteingebundenem Calcium im Plasma von Legehennen. (nach WINGET and SMITH, 1959)

URIST et al.(1958) fanden im Serum von Legehennen vier calciumbindende Proteinfractionen (CaBP): beta-Lipoproteine, Albumin, Phosphoprotein X₁ und Phospholipoprotein X₂. Außerdem beobachteten sie nach einer einmaligen Östrogeninjektion einen Anstieg der Gesamtcalciumkonzentration des Serums von Hähnen von $2,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf mindestens $25,0 \text{ mmol.l}^{-1}$. Das Phosphoprotein X₁ und das Phospholipo-

protein X_2 mit 79% des Calciums und beta-Lipoproteine mit 10% des Calciums erschienen im Serum. Nur 5% des Gesamtcalciums war an Albumin gebunden. In ultrafiltrierbarer Form lagen $1,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ Calcium vor und dieser Wert veränderte sich auch nach der Östrogeninjektion nicht signifikant. Das zusätzliche Calcium befand sich also in der nicht diffusiblen Calciumfraktion.

SCHJEIDE et al. (1963) zeigten, daß das Phosphoprotein X_1 und das Phospholipoprotein X_2 identisch waren mit Phosvitin und Lipovitellin, den calciumbindenden Proteinen des Eidotters (JOUBERT and COOK, 1958). Sie unterschieden sich jedoch von den calciumbindenden Proteinen des Duodenum und des Uterus (GUYER et al., 1980).

BERGINK et al. (1973, 1974) und DEELEY et al. (1975) stellten fest, daß es ein durch Östrogene induzierbares Phospholipoprotein gibt (Vitellogenin), welches den Vorgänger der Dotterproteine darstellt. Dieses Protein wird in der Leber synthetisiert und zum Ovar transportiert, wo es in Phosvitin und Lipovitellin gespalten wird (CHRISTMANN et al., 1977).

GORDON et al. (1977) bestimmten das Peptidmuster von Vitellogenin und HURWITZ (1978) und GUYER et al. (1980) fanden heraus, daß dem Vitellogenin 69% der calciumbindenden Aktivität des Serums von Hennen zuzuschreiben ist, wohingegen Albumin nur einen wesentlich geringeren Teil des Calciums bindet (GUYER et al., 1978, 1980). Vitellogenin und Albumin wurden durch Gelfiltration in ^{45}Ca Calcium Pufferlösung isoliert und Vitellogenin wurde durch radiale Immunodiffusion quantifiziert.

Bei dem Vergleich von zwei Linien von White Leghorn Hennen ergab sich, daß die Linie, die dickere Eischalen bildete sowohl eine höhere Gesamtcalciumkonzentration (CLAGETT et al., 1977; GRUNDER et al., 1983) als auch eine höhere

Vitellogeninkonzentration (GRUNDER et al., 1980a,b; KOCH et al., 1984b) im Serum aufwies als die Hennen, die dünne Eischalen bildeten. Der Albumingehalt des Serums unterschied sich in den beiden Gruppen nicht (GRUNDER et al., 1980a).

Die Ergebnisse von URIST et al. (1958) wurden von GRUNDER et al. (1980b) und KOCH et al. (1984b) bestätigt und ergänzt. Nach Östrogeninjektion stiegen innerhalb von 6 Tagen sowohl die nicht diffusible Calciumfraktion als auch die Vitellogeninbindung im Serum von Hähnen und Hennen an, wohingegen die Albuminbindung gleich blieb.

2.1.2. Die Kalkschalenbildung des Eies

Die Bildung eines legereifen Eies nimmt beim Haushuhn etwa 24 Stunden in Anspruch. Im Uterus, auch Schalendrüse genannt, wo das Ei ca. 19 Stunden verweilt, wird die Eischale gebildet. Die Mineralisation der Schale verläuft während der ersten 5-6 Stunden langsam und während der letzten 14 Stunden relativ schnell. Die Eischale enthält 98% anorganisches und 2% organisches Material. Der anorganische Anteil besteht größtenteils aus Calcium (38,2%), Phosphor (0,9%) und Magnesium (0,9%) in Form folgender Verbindungen: Calciumcarbonat CaCO_3 (98,43%), Magnesiumcarbonat (0,84%) und Tricalciumphosphat (0,73%).

Der hohe Calciumcarbonatanteil der Eischale erfordert die Bereitstellung großer Mengen von Calcium- und Carbonationen.

2.1.2.1. Die Calciumbereitstellung für die Eischalenbildung

Die Kalkschale eines durchschnittlich großen Hühnereies (ca. 60g) enthält etwa 2g Calcium. Da in der Schalendrüse Calcium nicht gespeichert werden kann, stellt das Blut die unmittelbare Calciumquelle dar (LÖRCHER and HODGES, 1969). Während der Hauptphase der Eischalenmineralisation nimmt der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas um etwa $0,5-0,8 \text{ mmol.l}^{-1}$ ab

(HODGES, 1969), wobei die ionisierte Calciumfraktion vorwiegend für die Eischalenbildung (LUCK and SCANES, 1979a) herangezogen wird und das proteingebundene Calcium für die Eidotterbildung (URIST et al., 1958)(siehe 2.6.4.).

2.1.2.2. Der Ursprung des Carbonates für die Eischalenbildung

In den Zellen der tubulösen Drüsen des Uterus werden durch metabolische Aktivität aus Wasser und Kohlendioxid Hydrogencarbonationen gebildet (HODGES and LÖRCHER, 1967; LÖRCHER and HODGES, 1969; CIPERA, 1980). Diese Reaktion wird durch die intrazelluläre Carboanhydrase katalysiert (DIAMANTSTEIN und SCHLÜNS, 1964; DIAMANTSTEIN, 1966; SNAPIR and PEREK, 1970a,b). Dieses Enzym wird von Sexualhormonen induziert oder aktiviert und ist auch an dem Calciumionentransport vom Blut in das Uteruslumen beteiligt (DIAMANTSTEIN, 1966). Die Hydrogencarbonationen werden in das Uteruslumen sezerniert und es entstehen durch Dissoziation eines Wasserstoffions Bicarbonationen, die sich mit Calciumionen verbinden und Calciumcarbonat bilden (siehe Abb. 2). Die Wasserstoffionen gelangen vom Uteruslumen in das Blut und führen dort zu einem Abfall des pH-Wertes (MONGIN and LACASSAGNE, 1966; MONGIN, 1968; HODGES, 1969).

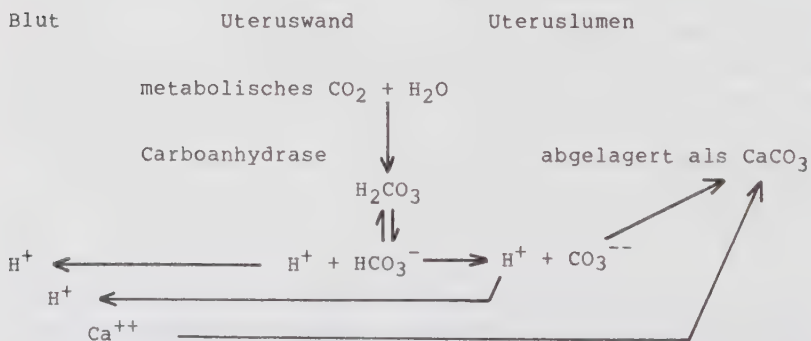


Abb. 2: Die Calciumcarbonatbereitstellung für die Eischalenbildung (nach HODGES and LÖRCHER, 1967).

2.1.3. Das Auftreten und die Funktion des medullären Knochens

Wegen des extrem hohen Calciumbedarfs für die Eischalenbildung benötigt der Vogel spezielle Calciumreserven. Hierfür eignet sich besonders das Skelett mit seiner Fähigkeit zu einer sekundären Markhöhlenossifikation.

Der sogenannte medulläre Knochen entwickelt sich vom Endost aus in Form feiner, sich verflechtender Knochenspiculae, die das rote Mark durchdringen. Bei Jungtieren entsteht er 10-14 Tage vor Beginn der Legetätigkeit (TAYLOR et al., 1971) unter dem Einfluß ovarieller Östrogene und Androgene (BAR and HURWITZ, 1979). Er ist ein sehr labiler Knochentyp und stellt eine schnell verfügbare Calciumreserve zur Regulation des Plasmacalciumspiegels während der Eischalenmineralisation dar, wenn der Calciumbedarf über die Nahrung nicht mehr gedeckt werden kann. Die Einlagerung und die Freisetzung von Calcium werden durch Calcitonin, Parathormon und Vitamin D₃ reguliert (ANDERSON and CONSUEGRA, 1970; LUCK et al., 1980; RAMBECK et al., 1985, 1986a,b). Auch Prostaglandin E₂ wurde unter in vitro-Bedingungen als Stimulator der Calciummobilisation aus den langen Röhrenknochen nachgewiesen (SATTERLEE et al., 1984).

2.1.4. Die Regulation des Calciumstoffwechsels

Neben dem Parathormon, dem Calcitonin und dem 1,25-Dihydroxycholecalciferol sind auch Östrogene an der Regulation der Calciumhomöostase beim Haushuhn beteiligt.

2.1.4.1. Parathormon

Das Parathormon wird in der Nebenschilddrüse (Epithelkörperchen) gebildet und seine Wirkungsweise beim Huhn entspricht grundsätzlich der der Säugetiere. Es erhöht den

Calciumspiegel im Blut sowohl durch Erhöhung der tubulären Rückresorption von Calcium in den Nieren, als auch durch Erhöhung des osteoklastischen Knochenabbaus mit Freisetzung von Calcium. Das Parathormon beeinflusst vorwiegend die Calciumionenkonzentration, welche wiederum rückwirkend die Sekretion dieses Hormons reguliert (URIST et al., 1960; LOBAUGH et al., 1981; KOCH et al., 1984a).

LUCK et al.(1980) fanden heraus, daß bei Hennen der Effekt des Parathormons vom Legezyklus abhängig war. Bei Hennen mit einem Ei in der Schalendrüse erhöhte eine einmalige Parathormoninjektion (40 Einheiten) den ionisierten Calciumspiegel des Plasmas sofort um ca. 20%. Bei Hennen ohne Ei im Uterus stieg die Calciumionenkonzentration erst nach einem vorübergehenden Abfall während der ersten 15 Minuten.

Der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas blieb in beiden Fällen relativ konstant.

2.1.4.2. Calcitonin

Calcitonin wird im ultimobranchialen Körper der Schilddrüse synthetisiert (DENT et al.,1969) und bei einem erhöhten Blutcalciumspiegel ausgeschüttet (ZEIGLER et al., 1969; BRAIMBRIDGE and TAYLOR, 1981).

Calcitonininfusionen führen beim Huhn zu einer Hypocalcämie (KRAINTZ and INTSCHER, 1969; SOMMERVILLE, 1978). Es fördert nicht aktiv den Knochenaufbau, sondern es schützt den Knochen eher vor einem Abbau (HIRSCH and MUNSON, 1969).

Auch für das Calcitonin wurde eine Abhängigkeit seiner Wirkung vom Legezyklus festgestellt (LUCK et al., 1980; BRAIMBRIDGE and TAYLOR, 1981). Eine einmalige Calcitonininjektion (40 Einheiten) senkte den ionisierten Calciumspiegel des Blutes um ca. 20% bei Hennen ohne Ei in der Schalendrüse, wohingegen dieser bei Hennen mit einem Ei im Uterus unverändert blieb. Der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas wurde durch Calcitonin nur während der Eibildung erniedrigt (LUCK et al, 1980).

2.1.4.3. Vitamin D₃

Vitamin D₃ wird entweder mit der Nahrung aufgenommen oder in der Haut unter UV-Licht-Einfluß aus dem Provitamin 7-Dehydrocholesterol synthetisiert. Nach zweimaliger Hydroxylierung in der Leber und in der Niere entsteht die stoffwechselaktive Form, das 1,25-Dihydroxycholecalciferol. Neben der Induktion eines calciumbindenden Proteins in der Mukosa des Dünndarms mit der Folge einer erhöhten Calciumabsorption durch die Darmwand erhöht 1,25(OH)₂D₃ die Reabsorption von Calcium aus den proximalen Tubuli der Nieren. Eine der Hauptfunktionen des Hormons ist die Calciummobilisierung aus dem Knochen sowie die Einlagerung von Calcium in die epiphyseale Knorpelwachstumszone und in den neugebildeten Knochen (BAR and HURWITZ, 1979; RAMBECK et al., 1981, 1984a, b, 1985, 1986a, b; DAUBENMERKL, 1983; GORALCZYK, 1985; PFLÜGER, 1986).

2.1.4.4.. Östrogene

Östrogene fördern die Bildung von 1,25(OH)₂D₃ und bedingen über diesen Weg eine erhöhte Calciumabsorption und eine Calciummobilisierung. Sie beeinflussen vorwiegend die protein-gebundene Calciumfraktion des Blutes (URIST et al., 1958, 1960; GRUNDER et al., 1980b; LOBAUGH et al., 1981). Mit dem Eintritt der Geschlechtsreife fördern sie zusammen mit Androgenen die Ausbildung des medullären Knochens und erhöhen den Gesamtcalciumspiegel des Plasmas von Hennen in der Legeperiode auf dem oben beschriebenen Weg (CHANG and MCGINNIS, 1967; MOHSIN and PAL, 1977; BAR and HURWITZ, 1979; BOLDEN et al., 1984). Unter ihrem Einfluß wird die Leber angeregt Vitellogenin zu synthetisieren, eines der Hauptbindungsproteine des Calciums im Blut (GEHRKE et al., 1978) (siehe 2.1.1.).

2.2. METHODEN ZUR BESTIMMUNG DES GESAMTCALCIUMS UND DES IONISIERTEN CALCIUMS IM BLUT

2.2.1. Gesamtcalcium

Die Bestimmung der Gesamtcalciumkonzentration im Blut kann auf verschiedene Weisen erfolgen. Die eingesetzten Methoden basieren dabei entweder auf den chemischen Eigenschaften des Calciums, lösliche oder unlösliche Komplexe zu bilden, oder auf den physikalischen Eigenschaften des Calciums.

Zu den chemischen Methoden zählen die Oxidimetrie, die EGTA- bzw. EDTA-Titration (HURWITZ, 1968), die Fluorometrie und die Kolorimetrie .

Von diesen Methoden ist die Titration mit Komplexbildnern am geeignetsten. Im allgemeinen sind chemische Methoden jedoch nicht sehr spezifisch und es treten häufig Interferenzen mit anderen Ionen auf. Außerdem benötigt man ein großes Probenvolumen, der Zeitaufwand ist erheblich und es ergeben sich häufig Fehler bei der Präzipitation und durch Präzipitationsverluste.

Zu den physikalischen Methoden gehören die Polarographie, die Potentiometrie, die Neutronenaktivierungsanalyse und spektralanalytische Verfahren wie die Flammenemissionsphotometrie (FEP) (GORALCYK, 1985; PFLÜGER, 1986) und die Atomabsorption (AAS) (LUCK and SCANES, 1979a; HAMILTON, 1981; PARSONS and COMBS, 1981).

Von diesen Methoden werden die FEP und die AAS am häufigsten eingesetzt, da sie sowohl hochempfindlich und sehr spezifisch sind als auch einfach und schnell durchführbar.

2.2.2. Ionisiertes Calcium

Da das ionisierte Calcium die physiologisch aktivste Komponente im Organismus darstellt, ist die direkt Bestimmung der ionisierten Calciumfraktion im Blut besonders wichtig.

Die meisten Probleme bei der Bestimmung des ionisierten Calciums werden durch das dynamische Gleichgewicht zwischen der proteingebundenen und der freien Calciumfraktion im Blut verursacht. Es ist daher unbedingt notwendig den physiologischen pH-Wert und die Elektrolytkonzentration der Probe bei der Analyse aufrechtzuerhalten (BUNCE and BLOOMER, 1972; GRIMA and BRAND, 1977). Die Probenentnahme sollte anaerob erfolgen, um pH-Veränderungen aufgrund eines CO₂-Verlustes der Probe zu vermeiden (RADDE et al., 1971; WYBENGA et al., 1976).

Bis vor kurzem standen nur biologische und chemische Bestimmungsmethoden zur Verfügung, welche relativ ungenau, zeitaufwendig und unspezifisch sind.

Auch die mathematische Berechnung der ionisierten Calciumfraktion aus dem Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt der Probe ist äußerst ungenau.

Der Einsatz ionenselektiver Elektroden ermöglicht die präzise, einfache und schnelle Messung der Calciumionenkonzentration im Blut (LUCK and SCANES, 1979a; PARSONS and COMBS, 1981). Diese Methode ist außerdem äußerst spezifisch und benötigt nur ein sehr kleines Probenvolumen.

Ionenselektive Elektroden sind elektrochemische Meßzellen, mit deren Hilfe sich Ionenkonzentrationen in Elektrolytlösungen bestimmen lassen. Die Meßkette zur Bestimmung der Calciumionen besteht aus zwei elektrochemischen Halbzellen: einer Meß-Elektrode mit ionenselektiver Membran und einer Bezugs-Elektrode. Beide Elektroden werden mit einem Spannungsgerät verbunden und durch das Eintauchen der Elektroden in eine Elektrolytlösung schließt sich der Stromkreis. Für die Bestimmung der Ionen werden Elektroden benutzt, die als aktive

Elektrodenphase eine mit dem betreffenden Ion spezifische reagierenden Ionenaustauscher besitzen, welcher meist kovalent an eine polymere Kunststoffmembran gebunden ist. Sowohl für die Glaselektrode (Referenzelektrode) als auch für die Membranelektrode (Calciumelektrode) gilt, daß sich an der Grenzfläche zwischen Innenelektrolyt und zu messender Probe eine Potentialdifferenz entwickelt, die proportional zu der Calciumionenkonzentration in der Probe ist.

2.3. PHYSIOLOGISCHE WERTE IM BLUT DES HAUSHUHNS:

VERGLEICH VON LITERATURDATEN BEZÜGLICH IONISIERTEM
CALCIUM, GESAMTCALCIUM, GESAMTPROTEIN, pH-WERT UND
KOHLENDIOXIDPARTIALDRUCK

Die Tabellen 1-5 geben Aufschluß über die in der Literatur angegebenen physiologischen Werte für Gesamtcalcium, ionisiertes Calcium, Gesamtprotein, pH-Wert und Kohlendioxidpartialdruck im Blut von Hühnern.

Soweit nicht besonders vermerkt, erfolgte die Blutentnahme durch Venenpunktion.

Tab. 1: **Gesamtcalciumkonzentration** (mmol.l^{-1}) im venösen Blut

a) - von White Leghorn Hähnen

Alter	Ca _{Ges}	Substrat	Nachweis- methode	Autor
adult	3,1	Plasma	EDTA- Titration	HURWITZ (1968)
adult	2,7	Plasma	Atom- Absorpt.	DENT et al. (1969)
adult	2,5	Plasma	Technicon AutoAnal.	BELJAN et al. (1971)
23 Monate	1,8	Plasma	Atom- Absorpt.	HAMILTON (1981)
10 Wochen	2,3	Plasma	Atom- Absorpt.	SCHEIBENHOFFER (1984)

b) - von White Leghorn Hennen

adult	7,2	Plasma	EDTA- Titration	HURWITZ (1968)
adult	5,2	Plasma	Atom- Absorpt.	DENT et al. (1969)
adult, legend	7,9	Serum	Atom- Absorpt.	MILLER et al. (1978)
nicht legend	3,8	"		
25 Wo., legend	5,6	Plasma	Auto- Analyser	LUCK and SCANES (1979a)
adult, legend	4,5-6,4	Plasma	Atom- Absorpt.	HAMILTON (1981)
adult, legend	6,2-6,8	Plasma	Atom- Absorpt.	HAMILTON et al. (1981)
4 Monate	2,0-2,4	Plasma	Atom- Absorpt.	PARSONS and COMBS
18 Monate *)	5,0-6,4	"		(1981)

*) Katheterblut der V.cutanea ulnaris

Tab.2: Calciumionenkonzentration (mmol.l^{-1}) im venösen Blut

a) - von White Leghorn Hähnen

Alter	Ca ⁺⁺	Substrat	Nachweis	Autor
10 Wochen	1,27	Vollblut	Orion SS20	SCHEIBENHOFFER (1984)

b) - von White Leghorn Hennen

adult, legend	1,1-1,6	Vollblut	Radiometer Ca.Selekt. (F 2112)	LUCK and SCANES (1979a)
adult, legend	1,5	Vollblut	Orion SS 20	HAMILTON et al. (1981)
4 Monate	1,3-1,4	Vollblut	Orion	PARSONS and COMBS (1981)
18 Monate 1)	1,2-1,4	"	SS 20	
40 Wochen 2)	1,81	Vollblut	Ionetics	ODOM et al. (1986)

1) Katheterblut der V.cutanea ulnaris

2) Katheterblut der A.carotis

Tab. 3: Gesamtproteinkonzentration (g.l^{-1}) im venösen Blut

a) - von White Leghorn Hähnen

Alter	P _{Ges}	Autor
20 Monate	40,0	STURKIE and NEWMAN (1951)
adult	39,0	BELJAN et al. (1971)
6 Wochen	38,0	ROSS et al. (1976)

b) - von White Leghorn Hennen

17 Mo., nicht legend	53,4	STURKIE and NEWMAN (1951)
14 Mo., legend	39,0-53,2	
adult	45,4	KÄHLKE (1961)
28 Wochen	56,0	SCHELLNER (1971)

Tab. 4: Säure-Basen- und Blutgas-Status des venösen Blutes

a) - von adulten White Leghorn Hähnen

Blutentnahmetechnik und Meßtemperatur	pCO ₂ (mmHg)	pH	Autor
V.jug.-Katheter, 40°C	50,1	7,409	BESCH et al.(1971)
V.cut.ulnaris-Katheter, 40°C	44,5	7,409	
V.cut.ulnaris-Punktion, 41°C	44,5	7,40	HAMILTON (1981)
V.cut.ulnaris-Punktion	63,3	7,20	SCHEIBENHOFFER (1984)

b) - von adulten White Leghorn Hennen

V.cut.ulnaris-Punktion, 41°C	46,4	7,35	HAMILTON (1981)
V.cut.ulnaris-Punktion	44,6	7,35	HAMILTON et al.(1981)

Tab. 5: Säure-Basen- und Blutgas-Status des arteriellen Blutes

a) - von adulten Hähnen

Blutentnahmetechnik und Meßtemperatur	pCO ₂ (mmHg)	pH	Autor
A.carotis-Katheter, 42°C	34,6	7,505	BURTON et al.(1968)
A.ulnaris-Katheter	29,2	7,53	CALDER and SCHMIDT- NIELSEN (1968)
A.carotis-Katheter, 40°C	34,4	7,521	BESCH et al.(1971)

b) - von adulten Hennen

A.ulnaris-Katheter	32,0	7,49	CHIODI and TERMAN (1965)
A.carotis-Katheter	24,0	7,45	ODOM et al.(1986)

2.4. TECHNIK FÜR SERIEN-BLUTENTNAHMEN AUS DEM ARTERIELLEN UND VENÖSEN SYSTEM DES KREISLAUFES BEIM HAUSHUHN

Für die Bestimmung der einzelnen Calciumfraktionen im Blut und um Aufschluß über deren Verhalten in Abhängigkeit von der Tageszeit, dem Legezyklus und der Futteraufnahme zu bekommen, benötigt man mehrere Blutproben von demselben Tier im Abstand von einigen Stunden.

In der Literatur werden mehrere Techniken für Serien-Blutentnahmen beim Haushuhn beschrieben. Die Eignung der einzelnen Blutentnahmetechniken ist abhängig vom Volumen des zu entnehmenden Blutes und der Blutentnahmefrequenz (Häufigkeit und Zeitintervall), sowie dem Schwierigkeitsgrad der Blutentnahme und der Belastung der Tiere.

Die Entnahme von venösem Blut bereitet weniger Schwierigkeiten als die Entnahme von arteriellen Blut und sie wird auch häufiger angewendet und beschrieben. Als Möglichkeiten der Entnahme von venösem Blut bieten sich beim Haushuhn an:

1. Herzpunktion

Mit dieser Methode kann man beim erwachsenen Huhn und auch beim Küken größere Blutmengen schnell und ohne Hilfe entnehmen (HOFSTAD, 1950; MacARTHUR, 1950). Die Nachteile dieser Methode sind hämodynamische Veränderungen bei wiederholter Blutentnahme (NORDSTROM and SMITH, 1970) und eine erhebliche Streßbelastung der Tiere. Es werden zwar nur ca. 1% Todesfälle beobachtet, aber die Herzpunktion hat z.B. negative Auswirkungen auf das Körpergewicht heranwachsenden Hühner (BUCKLAND et al., 1974) und zahlreiche Blutparameter können verändert werden (FREEMAN and MANNING, 1976; SALEH und JAKSCH, 1977). JOHNSON (1981) beobachtete einen Anstieg des Kortikosteronspiegels und einen Abfall des LH-, Testosteron-

und Progesteronspiegels. Die Untersuchungen des Plasma-Kortikosteroidspiegels bei Legehennen ergaben, daß bei einmaliger Blutentnahme die Herzpunktion und bei mehrmaliger Blutentnahme innerhalb kurzer Zeit die Venenpunktion die Tiere am wenigsten belasten (ESKLAND and BLOM, 1979).

2. Punktion des Sinus venosus occipitalis

VUILLAUME (1983) und ZIMMERMANN und DHILLON (1984) beschrieben diese Methode als besonders geeignet um bei kleinen Vögeln wiederholt relativ große Mengen Blut zu gewinnen.

3. Punktion der V. tibialis posterior

Die V.tibialis posterior bietet sich bei Serienpunktionen mit kurzen Zeitintervallen an. Die günstigen anatomischen Verhältnisse an der Umschlagstelle des Gefäßes in Sprunggelenksnähe gestatten eine einfache Durchführung der Gefäßpunktion ohne Komplikationen (Hämatom) (WORMUTH et al., 1980).

4. Punktion der V. thoracica externa

ALSAGER (1970) beschreibt die Vorteile der Punktion der V.thoracica externa gegenüber der V.cutanea ulnaris für wiederholte i.v. Injektionen beim Geflügel:

- a) Geringerer Blutdruck
- b) Die Vene ist zwar kleiner, aber leichter zu erreichen.
- c) Die Punktion ist angenehmer für den Vogel, da der Flügel nicht so weit zurück gehalten werden muß.
- d) Es entstehen weniger Hämatome.
- e) Die Punktionsstelle wird von dem Flügel abgedeckt, daher entsteht kein Anreiz zum Kannibalismus.

5. Punktion der V. cutanea ulnaris

Die Punktion der V.cutanea ulnaris ist eine weit verbreitete Methode für Serienblutentnahmen. Es entstehen jedoch häufig großflächige Hämatome, die ein wiederholtes Anstechen unmöglich machen. Die Streßbelastung der Tiere ist zwar geringer als bei der Herzpunktion, aber sie ist auch hier an den Hormonspiegeln des Blutes deutlich zu erkennen (WILSON and SHARP, 1975a,b; JOHNSON, 1981).

6. Punktion der V. jugularis dextra

Da beim Huhn die rechte V.jugularis stärker ausgebildet ist als die linke, wird diese bevorzugt verwendet. Die Hämatombildung bei der Punktion der V.jugularis schränkt die Eignung dieser Methode für die häufige Blutentnahme innerhalb kurzer Zeit ein. Ansonsten ist diese Technik sehr leicht und ohne fremde Hilfe durchführbar (HUBER, 1986).

7. Die Katheterisierung von Venen

Sowohl das Festhalten der Hühner und die Bewegungseinschränkung bei der Blutentnahme als auch die Punktion der Blutgefäße stellen eine Belastung für die Tiere dar. Als Folge davon steigt der Plasmakortikosteroidspiegel an (FREEMAN, 1971; BEUVING and VONDER, 1978; ESKLAND and BLOM, 1979; FREEMAN and FLACK, 1980; HARVEY et al., 1984). Eine ähnliche Reaktion zeigen Glukagon (FREEMAN and MANNING, 1976) und Aldosteron (RADKE et al., 1985). Eine Erhöhung der Herzschlagfrequenz bei gleichbleibender innerer Körpertemperatur und Respirationsrate wurden ebenfalls beobachtet (WHITTOW et al., 1965). Der Blutentnahmestreß kann somit verschiedene physiologische Variablen beeinflussen und geringgradige tägliche oder saisonale, zyklische Schwankungen von Blutparametern verdecken (SQUIBB, 1974; BEUVING and VONDER, 1977). Durch die Katheterisierung ist es möglich Blut

zu entnehmen, ohne die Vögel dabei zu beunruhigen (BEUVING and VONDER, 1977; JOHNSON, 1981). Dauervenenkatheter für Serien-Blutentnahmen wurden sowohl für das Haushuhn (KAPPAUF, 1971; KAPPAUF and van TIENHOVEN, 1972; JOSHUA et al., 1977; SIEGEL and LATIMER, 1980; LATIMER et al., 1981) als auch für das Truthuhn (McMURTRY and BROCHT, 1984) mehrfach beschrieben. Für die Katheterisierung scheinen folgende Venen besonders geeignet:

1. V.jugularis (SIEGEL and LATIMER, 1980; LATIMER et al., 1981; McMURTRY and BROCHT, 1984)
2. V.cutenea ulnaris (HAMILTON, 1977; NIGHTINGALE, 1977; JOHNSON, 1981; PARSONS and COMBS, 1981)

Für die Gewinnung von arteriellem Blut kommt beim Huhn nur die Katheterisierung in Frage, da bei der Punktion einer großen Arterie die Gefahr des Verblutens gegeben wäre und die Punktion kleiner Arterien nicht durchführbar ist. Als Möglichkeiten der arteriellen Blutentnahme bieten sich daher an:

1. Die Katheterisierung der A. carotis communis (WHITTOW et al., 1965; DARRE et al., 1980; HARRISON et al., 1982)

Diese Methode wird hauptsächlich zur Blutgas- und Blutdruckmessung verwendet. Der Katheter wird durch eine Ligatur um die A.carotis communis in dem Gefäß fixiert und unter der Haut an der dorsalen Fläche des Halses herausgeführt.

2. Die Katheterisierung der A. femoralis (NIGHTINGALE, 1977)

Da die A.femoralis relativ schwer zugänglich ist und einen größeren chirurgischen Eingriff voraussetzt, benötigt das Huhn einige Tage Erholung, bevor die erste Blutprobe entnommen werden kann (MARDER et al., 1974).

3. Die Katheterisierung der A.brachialis oder der A.ulnaris (CHIODI and Terman, 1965; PHILIPS et al., 1971; GRANT and PARKES, 1974; KILEY et al., 1980; GANTER, 1986)

Die Flügelarterie ist leicht zu erreichen und die Katheterisierung ist ohne größere Traumatisierung des umliegenden Gewebes möglich. Man kann die A.brachialis in Höhe des Oberarmes oder die A.ulnaris in Höhe des Unterarmes verwenden. Das Huhn wird durch den Katheter in seiner Bewegung nicht eingeschränkt und erholt sich sehr rasch von dem kleinen chirurgischen Eingriff. Die erste Blutentnahme kann 24 Stunden später erfolgen.

Die Durchgängigkeit der Katheter wird durch regelmäßige Freispülung mit heparinhaltiger, isotoner Kochsalzlösung gewährleistet. Die mögliche Verweildauer in den Gefäßen hängt stark von der Pflege des Zugangs ab, sowie von der Größe und der Art der Gefäße (Arterie oder Vene).

2.5. METHODISCHE FAKTOREN, DIE DIE CALCIUMKONZENTRATION EINER BLUTPROBE BEEINFLUSSEN

2.5.1. Probengewinnung

2.5.1.1. Blutentnahmestreß

Der Blutentnahmestreß hat nicht nur Auswirkungen auf die Herz-Kreislauffunktion und den Hormonhaushalt von Tieren, sondern er kann auch die Calciumkonzentration im Blut verändern. Über seinen Einfluß auf den Calciumspiegel beim Haushuhn gibt es bisher jedoch nur wenige Untersuchungen.

SLOAN et al. (1973) stellten fest, daß durch den Blutentnahmestreß durch vordere Herzpunktion der Gesamtcalciumspiegel im Serum von Hühnern um bis zu $0,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ über einen

Zeitraum von bis zu 12 Stunden sank.

Im Gegensatz dazu konnten TAHER et al. (1984) keine Beeinflussung der Gesamtcalciumkonzentration durch die Blutentnahmetechnik nachweisen.

Es gibt Untersuchungen bei Schafen, denen zufolge die Gesamtcalciumkonzentration im Katheterblut niedriger war als im Punktionsblut (MORGAN und UPTON, 1975; GOHARY, 1978).

Um die Aufregung der Tiere bei der Blutentnahme so gering wie möglich zu halten, empfiehlt sich daher die Katheterisierung von Blutgefäßen.

Da Hühner zur Katheterisierung betäubt werden, müssen jedoch auch die Auswirkungen der Narkose berücksichtigt werden. Anästhetika führen im allgemeinen zu einer Depression der Atmung und verändern somit den Säure-Basen- und Blutgas-Status. Auch beim Haushuhn konnten sowohl ein verminderter pH-Wert und Sauerstoffpartialdruck als auch ein erhöhter Kohlendioxidpartialdruck im Blut nachgewiesen werden (BURTON et al., 1968; BESCH et al., 1971; NIGHTINGALE, 1977). Demzufolge kann die Messung des ionisierten Calciumspiegels verfälscht werden, wenn sie noch während der Allgemeinanästhesie oder zu kurz danach durchgeführt wird.

Dagegen wurde die Gesamtcalciumkonzentration des Plasmas durch eine Narkose nicht verändert (WINGET et al., 1958).

2.5.1.2. Blutentnahmeort

Nicht nur die Wasserstoffionenkonzentration und die Partialdrücke der Blutgase, sondern auch die Calciumkonzentration einer Blutprobe sind abhängig sowohl von der Art des Blutes (Venen-, Kapillar- oder Arterienblut) als auch dem Ort der Blutentnahme.

NIGHTINGALE und RICHARDI (1977) fanden Unterschiede im Kohlendioxidpartialdruck und pH-Wert zwischen Blut aus der A.pulmonalis und dem rechten Atrium, wobei letzteres einen

niedrigeren pH und einen höheren Kohlendioxidpartialdruck aufwies.

RICHARDI und NIGHTINGALE (1981) stellten fest, daß der Kohlendioxidpartialdruck in der V.cutanea ulnaris um 4,25 mmHg und der Sauerstoffpartialdruck um 5,7 mmHg höher und der pH-Wert um 0,066 Einheiten niedriger waren als in der A.pulmonalis.

Wegen der methodischen Schwierigkeiten gleichzeitig arterielles und venöses Blut von einem Huhn zu entnehmen, gibt es in der Literatur nur wenige Untersuchungen, die die Konzentration der einzelnen Calciumfraktionen im arteriellen und venösen Blut vergleichen.

BUCKNER et al. (1930) bestimmten den Gesamtcalciumspiegel der A. und V. mesenterica cranialis. Bei Hennen, die keine Eier legten, betrug er in beiden Fällen $4,0 \text{ mmol.l}^{-1}$. Während einer Eibildungsphase bestand eine arterio-venöse Differenz von $-0,6 \text{ mmol.l}^{-1}$, wobei die Vene mit $5,6 \text{ mmol.l}^{-1}$ einen höheren Calciumgehalt aufwies als die Arterie ($5,0 \text{ mmol.l}^{-1}$).

WINGET et al. (1958) verglichen Blut aus dem rechten Herzen, welches an Stelle von "arteriellem" Blut aus der Schalendrüse entnommen wurde, mit venösem Blut aus Gefäßen direkt am Uterus (siehe Tab. 6). 18,2% des Gesamtcalciums wurden von der Schalendrüse dem "arteriellen" Blut entzogen, wenn sich ein Ei im Uterus befand. Da der diffusible Calciumspiegel des venösen Blutes nur geringgradig unter dem des arteriellen Blutes lag, nahmen sie an, daß entweder das proteingebundene Calcium aus dem Blut entfernt wurde, oder, daß dem Entzug von diffusiblen Calcium eine sehr rasche Dissoziation von gebundenem Calcium folgte. Die Gesamtcalciumkonzentration des "arteriellen" und venösen Blutes von Hennen ohne Ei im Uterus unterschieden sich nicht signifikant.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch HUNSAKER und STURKIE (1961).

Tab. 6: Plasmacalciumkonzentration (mmol.l^{-1}) im "arteriellen" und venösen Blut der Schalendrüse. Ergebnisse von WINGET et al. (1958) ($n = 3-8$; $\bar{x} \pm s$)

	Gesamtcalcium		diffusibles Calcium	
	arteriell	venös	arteriell	venös
1)	5,49 $\pm$ 0,05	5,36 $\pm$ 0,17	-----	-----
2)	7,34 $\pm$ 0,57	6,39 $\pm$ 0,42	2,20 $\pm$ 0,15	1,80 $\pm$ 0,42
3)	6,16 $\pm$ 0,52	4,94 $\pm$ 0,12	2,59 $\pm$ 0,42	2,35 $\pm$ 0,35

- 1) kein Ei im Uterus
- 2) Ei mit noch weicher Schale im Uterus
- 3) Ei mit harter Schale im Uterus

HODGES (1969) katheterisierte drei Blutgefäße von Hennen, die A. und V.femoralis sowie eine Vene direkt am Uterus, und verglich deren pH und Gesamtcalciumgehalt durch stündliche Blutentnahme über einen Legezyklus. Der pH des arteriellen Blutes betrug maximal 7,51 (10 Stunden nach Eiablage) und minimal 7,43 (21 Stunden nach Eiablage). Der pH des venösen Blutes aus dem Uterus war um 0,03 Einheiten niedriger und veränderte sich ansonsten parallel zu dem des arteriellen Blutes. Der Blut-pH der V.femoralis lag um durchschnittlich 0,1 Einheiten unter dem der Arterie. Sein Verlauf war uneinheitlich ohne deutliche Minima und Maxima.

Da der Gesamtcalciumgehalt der Oberschenkelarterie und -vene fast identisch waren, verglich HODGES (1969) das arterielle Blut der A.femoralis mit venösem Blut direkt aus der Schalendrüse. Während der ersten sechs Stunden nach Eiablage herrschte nur ein minimaler Unterschied von $0,05 \text{ mmol.l}^{-1}$ Gesamtcalcium. 13 bis 24 Stunden nach Eiablage wurde die arterio-venöse Differenz signifikant und erhöhte sich auf $-0,5-1,0 \text{ mmol.l}^{-1}$, wobei die Calciumkonzentration des arteriellen Blutes höher war.

Bei all diesen Versuchen lagen die Hühner während der Blutentnahme in Vollnarkose oder sie wurden mit Äther in einem narkoseähnlichem Zustand gehalten, Nach den Untersuchungen wurden die Tiere euthanasiert.

Da diese Bedingungen ganz und gar unphysiologisch sind, sollte man versuchen bei einem Vergleich von arteriellen und venösem Blut die Katheter so zu legen, daß die Blutentnahme unter annähernd physiologischen Bedingungen für die Vögel durchgeführt werden kann.

2.5.1.3. Venenstau bei der Blutentnahme

Bei der Venenpunktion ist es beim Huhn unumgänglich das Blutgefäß sowohl kurz vor als auch während der Blutentnahme manuell zu stauen. Über die Auswirkungen der Venostase auf den ionisierten Calciumspiegel des Blutes und die Gesamtcalcium- und Gesamtproteinkonzentration sowie den pH-Wert gibt es für das Haushuhn keine Angaben.

Beim Menschen liegen zahlreiche Untersuchungen über den Einfluß eines Armvenenstaues mit oder ohne gleichzeitiger aktiver Armbewegung auf die oben genannten Blutparameter vor. Der Anstieg des ionisierten Calciums und des Gesamtcalciums um ca. 3% und des Gesamtproteins und der Wasserstoffionenkonzentration um ca. 5% bei der Venostase wurden durch aktive Armbewegung etwa verdreifacht (KÖLLING, 1984).

2.5.1.4. Anaerobe Blutentnahme

Die Probengewinnung (Vollblut, Serum oder Plasma) zur Bestimmung der Konzentration des ionisierten Calciums sollte unter streng anaeroben Bedingungen erfolgen, um CO₂-Verluste, die eine pH-Verschiebung zur Folge haben, zu vermeiden. Um dies

zu erreichen sollte der Totraum der Spritzen vor der Blutentnahme mit einem Antikoagulans gefüllt, die Proben möglichst ohne Luftbläschen entnommen und sofort danach luftdicht verschlossen werden.

Unabhängig von der Größe der Luftblasen in der Spritze erhöhen diese den Sauerstoffpartialdruck und erniedrigen den Kohlendioxidpartialdruck von Blutproben innerhalb von 3 Minuten (BISWAS et al., 1982).

2.5.1.5. Antikoagulantien

Für die Gewinnung von Plasma und zur Vermeidung einer möglichen Verstopfung der Gefäßkatheter ist der Einsatz von Antikoagulantien bei der Blutentnahme unbedingt nötig.

Da herkömmliche Substanzen wie Citrat, EDTA und Oxalat mit Calciumionen Komplexe bilden und den pH-Wert der Proben verschieben, ist ihre Verwendung zur Bestimmung der ionisierten Calciumfraktion im Blut nicht möglich.

Der Einfluß von Heparin auf die Calciumkonzentration von Blutproben wurde beim Menschen vielfach untersucht. Auf den Gesamtcalciumgehalt hat die Applikation von Heparin zur Blutprobe bei der Bestimmung mittels Atomabsorption keinen Effekt; eine Konzentrationsverminderung tritt jedoch bei der Messung mittels Flammenphotometrie ein (PASCHEN, 1975). Heparin führt zu einer konzentrationsabhängigen Erniedrigung des ionisierten Calciumspiegels (BISWAS et al., 1981; KÖLLING, 1984), welche jedoch durch eine CaCl_2 -Substitution der Heparinlösung weitgehend vermieden werden kann (KÖLLING, 1984).

Dies gilt in gleicher Weise auch für Vögel.

McMURTRY et al. (1984) untersuchten die Wirkungen verschiedener Typen und verschiedener Konzentrationen von Antikoagulantien auf die Calciumkonzentration des Plasmas von Truthühnern (siehe Tab. 7). Natrium- und Ammonium-Heparin in einer Konzentration von 10 IE pro ml Plasma schienen am geeignetsten, da sie die ionisierte Calciumfraktion nicht

wesentlich veränderten. In höheren Konzentrationen als 50 IE pro ml Plasma senkten sie, wie auch EDTA, Natrium-Citrat und Natrium-Fluorid, den ionisierten Calciumspiegel der Proben. Wie WINGET et al. (1958) für Heparin festgestellt hatten, veränderte sich in den Versuchen von McMURTRY et al. (1984) die Gesamtcalciumkonzentration der Proben durch keines der untersuchten Antikoagulantien signifikant.

Tab. 7: Wirkung verschiedener Arten und Konzentrationen von Antikoagulantien auf die Konzentration des ionisierten Calciums (mmol.l^{-1}) und des Gesamtcalciums (mmol.l^{-1}) in Plasmaproben von Truthühnern. Ergebnisse von McMURTRY et al. (1984). ($n = 5$; $\bar{x} \pm s$)

Konzentration des Antikoagulans		Ca^{++}	Ca_{Ges}
Natrium-Heparin	0 IE/ml	$1,25 \pm 0,01^a$	$7,50 \pm 0,45$
	10 IE/ml	$1,25 \pm 0,02^a$	$7,29 \pm 0,33$
	100 IE/ml	$1,11 \pm 0,02^b$	$7,48 \pm 0,39$
Ammonium-Heparin	0 IE/ml	$1,26 \pm 0,00^a$	$7,59 \pm 0,29$
	10 IE/ml	$1,27 \pm 0,01^a$	$7,51 \pm 0,55$
	100 IE/ml	$1,11 \pm 0,02^b$	$7,67 \pm 0,65$
EDTA	0,5 mg	$0,62 \pm 0,16$	$8,07 \pm 0,57$
	1 mg	0	$7,63 \pm 0,38$
Natrium-Fluorid	4 mg	0	$8,12 \pm 0,63$
Natrium-Citrat(0,13M)	0,1 ml	0	$7,97 \pm 0,49$

a,b zwischen Zahlen mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte besteht ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$).

2.5.2. Probenbehandlung

2.5.2.1. Lagerung und Transport

Bei dem Transport und der Lagerung von Vollblutproben kann es durch den Fortgang der Stoffwechselprozesse der Blutkörperchen zu einem Sauerstoffverbrauch, einer Kohlendioxidbildung und der Anhäufung von Laktat und Pyruvat kommen. Im Plasma oder Serum kommt es außerdem zu Entmischungseffekten, zur Denaturierung von Proteinen, zum enzymatischen Abbau von Substraten, zur Diffusion von Gasen (CO_2 , O_2) und zur bakteriellen Zersetzung. Das Ausmaß der Änderungen ist dabei im wesentlichen von der Art der Aufbewahrung, dem Probenmaterial, der Lagerungsdauer und der Lagerungstemperatur abhängig.

Da sich das Blut von Vögeln in einigen Parametern, wie z.B. zellkernhaltige Erythrozyten, von dem der Säugetiere unterscheidet, kann man die Ergebnisse der Blutprobenlagerung von Säugetieren nicht ohne weiteres auf das Haushuhn übertragen.

TAYLOR und HERTELENDY (1961) untersuchten das Plasma von Legehennen. Der pH-Wert nahm durch CO_2 -Verlust um 0,3 Einheiten von 7,55 auf 7,87 zu, nachdem die Plasmaproben 3 Stunden lang offen bei Raumtemperatur aufbewahrt wurden. Dies ging einher mit einem Abfall der diffusiblen Calciumfraktion um 0,25-0,50 mmol.l^{-1} (13-23%).

NIGHTINGALE et al. (1975) kamen zu genau entgegengesetzten Ergebnissen. Während der Aufbewahrung von Vollblutproben von Hühnern in verschlossenen Spritzen bei einer Umgebungstemperatur von 24-27°C über einen Zeitraum von 80 Minuten stieg der pCO_2 um 0,044 mmHg pro Minute und der pH-Wert fiel um 0,00049 Einheiten pro Minute.

Bei der Lagerung von Vollblutproben in verschlossenen Plastikspritzen bei 4°C stellte SCHEIBENHOFFER (1984) nach 24 Stunden eine Erhöhung des Kohlendioxidpartialdruckes der

Proben von $63,4 \pm 5,7$ mmHg auf $68,5 \pm 5,8$ mmHg und der Gesamtcalciumkonzentration um $0,17 \text{ mmol.l}^{-1}$ sowie einen Abfall des pH-Wertes von $7,20 \pm 0,05$ auf $7,16 \pm 9,94$.

Der ionisierte Calciumspiegel veränderte sich bei kühler Lagerung der Proben (4°C) innerhalb eines Tages nicht signifikant (LUCK and SCANES, 1979a; SCHEIBENHOFFER, 1984).

McMURTRY et al. (1984) führten ähnliche Untersuchungen bei Truthühnern durch. Die Calciumionenkonzentration betrug sowohl in frischem Plasma als auch in frischem Serum etwa $1,22 \pm 0,02 \text{ mmol.l}^{-1}$. Die Aufbewahrung der Proben in Vacutainern^R bei 4°C führte zu einer signifikanten Erniedrigung des ionisierten Calciumspiegels im Serum nach 4 Stunden und im Plasma nach 8 Stunden. Nach 24 Stunden fiel die Calciumionenkonzentration auf $1,01 \pm 0,03 \text{ mmol.l}^{-1}$ im Serum und auf $0,98 \pm 0,02 \text{ mmol.l}^{-1}$ im Plasma bzw. auf $0,91 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ und $1,00 \pm 0,04 \text{ mmol.l}^{-1}$ in den tiefgefroren gelagerten Proben ab. Der Gesamtcalciumspiegel (durchschnittlich $7,55 \pm 0,28 \text{ mmol.l}^{-1}$) veränderte sich während des gesamten Zeitraumes auch in den eingefrorenen Proben nicht signifikant.

2.5.2.2. Äquilibrierung

Die Auswirkungen der Begasung von Blutproben mit unterschiedlichen Kohlendioxidkonzentrationen auf den ionisierten Calciumspiegel und den Gesamtcalciumspiegel bei Masthähnchen untersuchte SCHEIBENHOFFER (1984). Die Äquilibrierung mit steigender CO_2 -Konzentration von 4 auf 8 Vol.% verursachte eine Senkung des pH-Wertes von $7,39 \pm 0,04$ auf $7,23 \pm 0,04$ und einen Anstieg der Calciumionenkonzentration von $1,17 \pm 0,08$ auf $1,20 \pm 0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$.

NIGHTINGALE and FEDDE (1972) bestimmten die Pufferkapazität von Hühnerblut bei 40°C . Bei der Äquilibrierung des Blutes mit Kohlendioxid ergab sich eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus des Kohlendioxidpartialdruckes ($\log P_{\text{CO}_2}$) und dem pH-Wert. Die Steigung der Geraden betrug $-1,45$.

2.6. PHYSIOLOGISCHE FAKTOREN, DIE BEIM HAUSHUHN DEN IONISIERTEN CALCIUMSPIEGEL DES BLUTES BEEINFLUSSEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DEM GESAMTCALCIUM- UND GESAMTPROTEINGEHALT UND DEM SÄURE-BASEN- UND BLUTGAS-STATUS

2.6.1. Alter

In den ersten Lebensmonaten verändern sich sowohl der ionisierte Calciumspiegel als auch der Gesamtcalciumspiegel des Blutes von Hühnern. Nach Eintritt der Geschlechtsreife bleiben beide in Bezug auf das Alter der Tiere relativ konstant (COMBS et al., 1979; PARSONS and COMBS, 1981; HAMILTON, 1981).

Bei männlichen Tieren wurde ein Anstieg der Gesamtcalciumkonzentration von $2,2 \text{ mmol.l}^{-1}$ mit 3 Tagen auf $2,7 \text{ mmol.l}^{-1}$ mit 70 Wochen beobachtet (DENT et al., 1969).

COMBS et al. (1979) züchteten zwei Linien von White Leghorn Hennen, die sich hinsichtlich ihrer Eischalenstabilität unterschieden (HES : hohe und NES : niedrige Eischalenstabilität), und verglichen die Calciumwerte der heranwachsenden Junghennen im venösen Blut (siehe Tab. 8). Von der 2. bis zur 25. Lebenswoche stiegen die Gesamtcalciumkonzentration von durchschnittlich $2,13 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $6,86$ (HES) bzw. $5,24$ (NES) mmol.l^{-1} und der ionisierte Calciumspiegel von durchschnittlich $1,00$ auf $1,58$ (HES) bzw. $1,74$ (NES) mmol.l^{-1} an. Nach der 18. Woche wurde der Calciumgehalt des Futters von $1,00\%$ auf $3,47\%$ erhöht. Der prozentuale Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium betrug bei den Jungtieren $45-60\%$, mit dem Eintritt der Geschlechtsreife fiel er auf $25,6\%$ (HES) bzw. auf $36,5\%$ (NES) ab.

Tab. 8: Calciumionenkonzentration (mmol.l^{-1}) und Gesamtcalciumgehalt (mmol.l^{-1}) des Plasmas von 2 Linien von White Leghornhennen (HES: hohe Eischalenstabilität; NES: niedrige Eischalenstabilität) in Abhängigkeit vom Alter. Die Blutentnahme erfolgt durch Venenpunktion. Ergebnisse von COMBS et al. (1979) ($n = 10-30$; $\bar{x} \pm s$).

Alter (Wochen)	Ca _{Ges}		Ca ⁺⁺		Ionisations- grad (%)	
	HES	NES	HES	NES	HES	NES
2	2,15 $\pm$ 0,06	2,12 $\pm$ 0,12	0,97 $\pm$ 0,03	1,02 $\pm$ 0,02	44,7	44,2
5	2,08 $\pm$ 0,08	2,12 $\pm$ 0,09	1,30 $\pm$ 0,01	1,25 $\pm$ 0,01	60,2	62,8
18	2,42 $\pm$ 0,06	2,45 $\pm$ 0,07	1,20 $\pm$ 0,02	1,23 $\pm$ 0,02	50,3	51,2
25	6,86 $\pm$ 0,05	5,24 $\pm$ 0,51	1,58 $\pm$ 0,04	1,74 $\pm$ 0,07	25,6	36,5

PARSONS (1980) und PARSONS and COMBS (1981) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Die Gesamtcalciumkonzentration im venösen Blut war bei 4 Monate alten Hühnern niedriger ($2,24 \text{ mmol.l}^{-1}$) als bei 18 Monate alten Legehennen ($5,50 \text{ mmol.l}^{-1}$). Der ionisierte Calciumspiegel beider Altersgruppen schwankte zwischen $1,21$ und $1,41 \text{ mmol.l}^{-1}$, bei den Jungtieren in Abhängigkeit von der Tageszeit und/oder der Futteraufnahme und bei den erwachsenen Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus. Der Ionisationsgrad fiel mit Eintritt der Geschlechtsreife von 60% auf 24% ab.

Während der Wachstumsphase erhöht sich bei Hühnern parallel zum Gesamtcalciumspiegel auch der Gesamtproteingehalt des Blutes. MORGAN und GLICK (1972) ermittelten einen Anstieg der Gesamtproteinkonzentration von $26,8 \text{ g.l}^{-1}$ bei Küken auf $45,3 \text{ g.l}^{-1}$ in der 12. Woche.

Etwa ab der 25. Lebenswoche hat das Alter keinen bedeutenden Einfluß mehr auf den Gesamtcalciumspiegel (SNAPIR and PEREK, 1970b) und den Säure-Basen-Status des Blutes von Hühnern.

HAMILTON (1981) verglich 262 und 478 Tage alte Legehennen. Bei beiden Altersgruppen betrug der pH des venösen Blutes durchschnittlich 7,35, der Kohlendioxidpartialdruck 46,4 mmHg und die Gesamtcalciumkonzentration $5,9 \text{ mmol.l}^{-1}$.

2.6.2. Geschlecht

Wie bereits unter Punkt 2.1.1. beschrieben, besteht bei geschlechtsreifen Hennen und Hähnen ein wohl hormonell bedingter Unterschied in der Calcium- und Proteinkonzentration des Blutes.

Erwachsene Hennen weisen deutlich höhere Gesamtproteinwerte auf als Hähne (STURKIE and NEWMAN, 1951; VERMA et al., 1975).

Für den Gesamtcalciumgehalt von adulten Hähnen geben HURWITZ (1968) $3,1 \text{ mmol.l}^{-1}$ an, DENT et al. (1969) $2,7 \text{ mmol.l}^{-1}$ und HAMILTON (1981) $1,8 \text{ mmol.l}^{-1}$ im Vergleich zu $7,2 \text{ mol.l}^{-1}$, $5,2 \text{ mmol.l}^{-1}$ und $4,8 \text{ mmol.l}^{-1}$ entsprechend bei Hennen.

Nach Östrogeninjektion erhöhte sich die Gesamtcalciumkonzentration des Blutes von Hähnen von ca. $2,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf etwa das Zehnfache und die Gesamtproteinkonzentration von ca. 44 g.l^{-1} auf 74 g.l^{-1} (URIST et al., 1958; BAR and HURWITZ, 1979; GRUNDER et al., 1980b). Der Calciumanstieg erfolgte hauptsächlich in der nicht diffusiblen Fraktion und es erschienen Proteine im Serum, die normalerweise bei Hähnen nicht zu finden sind. Ähnliche Beobachtungen machten McMURTRY and FROBISH (1981) bei Truthühnern.

Die Konzentration des ionisierten Calciums schwankt bei Hennen zwischen $1,1$ und $1,6 \text{ mmol.l}^{-1}$ (LUCK and SCANES, 1979a; HAMILTON, 1981; PARSONS and COMBS, 1981), die männlicher Jungtiere wurde bisher nur von LOBAUGH et al. (1981) und SCHEIBENHOFFER (1984) bestimmt. Sie betrugen $1,03$ bzw. $1,27 \text{ mmol.l}^{-1}$.

In Bezug auf den Säure-Basen-Status und die Blutgase unterscheiden sich männliche und weibliche Tiere nur gering. Bei Hennen stieg der Basenüberschuß von + 2,5 in der 17. Lebenswoche auf + 14,0 in der 23. Lebenswoche an, was einem erheblichen Bicarbonatanstieg kurz vor Beginn der Legereife entsprach (MONGIN and LACASSAGNE, 1966 ; SIMKISS, 1970). Bei Hähnen trat diese Erhöhung nicht ein. SIMKISS (1970) führte dies auf eine erhöhte Bicarbonat-Resorption aus dem Darm mit dem Erreichen der Geschlechtsreife und dem Beginn der Fortpflanzungsaktivität zurück.

Sowohl bei adulten Hennen als auch bei Hähnen betrug der pH-Wert des venösen Blutes ca. 7,40 und der Kohlendioxidpartialdruck ca. 44,0 mmHg (HAMILTON, 1981).

2.6.3. Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung

Da die Ernährung einen wesentlichen Einfluß auf viele klinisch-chemische Parameter des Blutes hat, wurden speziell beim Geflügel sowohl der Effekt der Nahrungsaufnahme bzw. des Nahrungsentzuges als auch der Effekt der Nahrungszusammensetzung auf die einzelnen Calciumfraktionen im Blut mehrfach untersucht.

Über den Calciumbedarf von Legehennen liegen unterschiedliche Angaben vor. Um eine maximale Legeleistung und eine optimale Eischalenqualität zu erzielen werden 2,60-3,85% Calcium im Futter empfohlen (REDDY and SANFORD, 1963; SANFORD and ALDER, 1969; DAVIDSON and BOYNE, 1970; SCOTT et al., 1971; SUMMERS et al., 1976). Ein höherer Calciumgehalt im Futter wirkt sich nicht weiter positiv aus (HURWITZ and BORNSTEIN, 1966; HARMS and WALDROUP, 1971), sondern er vermindert sogar die Legeleistung (DURHAM et al., 1960; HINNERS et al., 1963).

Der Calciumgehalt des Futters kann die Calciumfraktionen im Blut beeinflussen. Ein steigender Calciumprozentsatz in der

Nahrung erhöhte sowohl den Gesamtcalciumspiegel (PEPPER et al., 1961; TAYLOR and HERTELENDY, 1961; HURWITZ and BAR, 1966; LUCK and SCANES, 1979b; PARSONS, 1980; HASELBAUER, 1980; WINKLER et al., 1984) als auch die Calciumionenkonzentration des Blutes von Hühnern (COMBS et al., 1979; PARSONS, 1980; PARSONS and COMBS, 1980).

Neben dem Calciumgehalt des Futters hat auch die **Calciumquelle**, seine Konsistenz und Teilchengröße Auswirkungen auf den Blutspiegel.

ROLAND und HARMS (1973) fütterten Legehennen mit einem Grundfuttermittel mit 3% Calcium und einem Zusatz von fein granuliertem Kalk. Der Ersatz von zwei Drittel des fein granulierten Kalkes durch größere Kalkstückchen oder Muschelschalen verbesserte die Eischalenqualität und erhöhte den Gesamtcalciumspiegel des Serums von 5,9 auf 6,8 mmol.l⁻¹. Auch QUISENBERRY und WALKER (1970) waren zu ähnlichen Ergebnissen gekommen wie ROLAND und HARMS (1973).

Einen noch größeren Effekt als die Calciumkonzentration im Futter übt die **Nahrungszusammensetzung** auf die Calciumfraktionen im Blut aus (BOLDEN et al., 1982,1984).

Durch einen Zusatz von Fischmehl, Alfalfamehl und Hefe zu einer Mais-Soja-Grundfuttermischung erniedrigte sich die diffusible Calciumkonzentration um 11% und die nicht diffusive Calciumfraktion um ca. 16% (BOLDEN and JENSEN, 1985a,b).

Der Vitamin D₃ Gehalt des Futters und die jeweilige Konzentration der verschiedenen Vitamin D₃-Metaboliten haben ebenfalls einen entscheidenden Einfluß auf den Gesamtcalciumspiegel des Blutes von Hühnern (HASELBAUER, 1980; RAMBECK et al., 1981,1985,1986a,b; DAUBENMERKL, 1983; WINKLER et al., 1984; GORALCZYK, 1985).

Obwohl Ascorbinsäure relativ stabile Komplexe mit Calciumionen bildet, veränderte sich durch Zugabe von Vitamin C zum Futter der Gesamtcalciumspiegel des Blutes von Hühnern nicht

(PEPPER et al., 1961; SULLIVAN and GEHLE, 1962; ROWLAND et al., 1973; SIFRI et al., 1977).

Fettsäuren im Futter wirkten sich negativ auf den Mineralstoffwechsel von Hühnern aus, und zwar besonders auf den Calcium-, Magnesium- und Zinkgehalt des Blutes (DEWAR et al., 1975; WHITEHEAD et al., 1971; HAKANSSON, 1975a,b). Durch den Zusatz von 8% Fettsäuren erniedrigte sich der Gesamtcalciumspiegel des Plasmas von 3 Wochen alten Broilern von 3,07 auf durchschnittlich $2,54 \text{ mmol.l}^{-1}$ (ATTEH and LESSON, 1983). ATTEH and LESSON (1984) führten diesen Effekt auf die Bildung unlöslicher Seifen zwischen den Mineralstoffen und den Fettsäuren während der Verdauung zurück.

Die Ernährung beeinflusst u.a. auch die Gesamteiweißkonzentration des Blutes. Legehennen, die ein energiereiches Futter aufnahmen, zeigten einen höheren Gesamtproteingehalt ($64,1 \pm 1,0 \text{ g.l}^{-1}$) als solche mit einem energiearmen Futter ($54,0 \pm 2,1 \text{ g.l}^{-1}$) (EL JACK et al., 1978).

Der Auswirkung der **Nahrungsaufnahme** bzw. des **Nahrungsentzugs** auf die Calciumfraktionen im Blut von Hühnern wurden bisher in der Literatur nur vereinzelt Interesse geschenkt.

ROLAND et al. (1972a) untersuchten den Einfluß einer restriktiven Fütterungsweise und eines Nahrungsentzugs auf den Gesamtcalciumspiegel des Serums von Hühnern. Eine Gruppe von Hühnern bekam ein Mais-Soja-Futter mit 3% Calcium ad libitum, eine zweite Gruppe bekam dieselbe Grundration mit 4% Calcium, wovon ihnen aber nur 75% der Menge zugeteilt wurde (Fütterung alle 2 Stunden). Die Gesamtcalciumaufnahme war in beiden Gruppen gleich. Obwohl enorme Unterschiede in der Höhe der Calciumaufnahme zu verschiedenen Tageszeiten beobachtet wurden, waren die Calciumspiegel im Serum beider Gruppen fast identisch mit einem Maximum von $5,1 \text{ mmol.l}^{-1}$ um 12⁰⁰Uhr und Minima von ca. $4,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ um 8⁰⁰ und 16⁰⁰ Uhr. Ein 16-stündiger Nahrungsentzug an einem oder an vier aufeinanderfolgenden Tagen bewirkte einen konstanten Anstieg der

Calciumkonzentration im Serum von 8⁰⁰ bis 16⁰⁰ Uhr am folgenden Tag. Innerhalb der nächsten 24 Stunden, nachdem die Tiere wieder Futter bekamen, kehrte der Calciumspiegel wieder zu seinem vorherigen Verhalten zurück.

McMURTRY et al. (1984) beobachteten bei 4 Wochen alten Trutzhühnern nach 48-stündigem Futterentzug einen Anstieg des ionisierten Calciumspiegels im venösen Blut von $1,12 \pm 0,04$ auf $1,28 \pm 0,02$ mmol.l⁻¹ und des Gesamtcalciumspiegels von $3,47 \pm 0,13$ auf $3,72 \pm 0,12$ mmol.l⁻¹.

Auf die Erhöhung der Gesamtcalciumkonzentration des Blutes von Hühnern nach Aufnahme einer calciumreichen Mahlzeit und den Abfall derselben nach Futterentzug wies LOBAUGH (1981) hin.

2.6.4. Legezyklus

Nach den bisher in der Literatur vorliegenden Untersuchungen bestehen sowohl Unterschiede in der Calciumkonzentration des Blutes zwischen legenden und nicht legenden Hennen als auch innerhalb eines Legezyklus.

So stellten MILLER et al. (1978) fest, daß der Gesamtcalciumspiegel im Serum von nicht legenden Hennen mit durchschnittlich 3,9 mmol.l⁻¹ etwa halb so hoch war wie der von legenden Hennen (7,9 mmol.l⁻¹).

Schon 1933 versuchten CHARLES und HOGBEN die Calciumkonzentration im Blut in direkte Beziehung zu dem Zyklusstand von Legehennen zu setzen. Der Gesamtcalciumspiegel schwankte zwischen 2,6 mmol.l⁻¹ und 7,1 mmol.l⁻¹, wenn sich ein Ei im Uterus befand. Er blieb jedoch relativ konstant auf 4,3 mmol.l⁻¹, wenn kein Ei in Ausbildung war.

KNOWLES et al. (1935) brachten niedrige Gesamtcalciumwerte in Verbindung mit der Eischalenmineralisation, hohe Calciumwerte dagegen mit der Inaktivität der Schalendrüse.

Eine Unterscheidung zumindest zwischen diffusiblem und nicht diffusiblem Calcium trafen erstmals POLIN und STURKIE (1957). Sie fanden heraus, daß die diffusable Calciumfraktion während der Eischalenver kalkung von $1,6 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $1,3 \text{ mmol.l}^{-1}$ abfiel, wohingegen sich der Gesamtcalciumspiegel ($4,7 \text{ mmol.l}^{-1}$) nicht veränderte.

Im Gegensatz dazu beobachteten WINGET und SMITH (1958) eine Abnahme der Gesamtcalciumkonzentration von $6,6 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $5,4 \text{ mmol.l}^{-1}$ in Abhängigkeit von der Aktivität der Schalendrüse. Sie führten dies hauptsächlich auf eine Abnahme der nicht diffusbilen Calciumfraktion zurück, da der diffusable Calciumspiegel ziemlich konstant auf $2,8 \text{ mmol.l}^{-1}$ blieb. Der Prozentsatz von diffusiblem Calcium zum Gesamtcalcium stieg mit der Eischalenbildung von 33% auf 50% an.

Auch HERTELENDY and TAYLOR (1961) fanden heraus, daß während der Eischalenmineralisation der Gesamtcalciumspiegel des Plasmas von $6,9 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $5,9 \text{ mmol.l}^{-1}$ abfiel. In einer weiteren Untersuchung (TAYLOR and HERTELENDY, 1961) ergab sich, daß dies auf einem Abfall der diffusbilen Calciumfraktion beruhte. Die unterschiedlichen Ergebnisse führten sie auf die verschiedenen Bestimmungsmethoden des diffusbilen Calciums zurück. Im Gegensatz zu WINGET und SMITH (1958) hielten sie den pH-Wert des Plasmas während der Analyse konstant.

Andere Arbeitsgruppen kamen zu der Erkenntnis, daß sich die Gesamtcalciumkonzentration des venösen Blutes in Abhängigkeit vom Legezyklus in einer charakteristischen Weise verändert (siehe Tab. 10). Sie steigt gleich nach Eiablage an, erreicht 4-7 Stunden später ein Maximum und fällt anschließend ab auf ein Minimum zur Zeit der Hauptphase der Eischalenmineralisation (ca. 20 Stunden nach Eiablage) (PAUL and SNETSINGER, 1969; HODGES, 1969; DACKE, 1970; HAMILTON, 1981; PARSONS and COMBS, 1981).

Tab. 10: Calciumionenkonzentration (mmol.l^{-1}) und Gesamtcalciumgehalt (mmol.l^{-1}) des Plasmas von Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus. Ergebnisse von PARSONS and COMBS (1981) (A,B) und HAMILTON (1981) (C).
(n = 7-10; $\bar{X} \pm s$)

Zeit nach Eiablage (Stunden)	A	B	C	
	Ca _{Ges}	Ca ⁺⁺	Ca _{Ges} 248*	640*
0	6,09 $\pm$ 0,63	1,38 $\pm$ 0,02	--	--
4	6,41 $\pm$ 0,40	1,41 $\pm$ 0,02	5,7	6,4
8	5,78 $\pm$ 0,28	1,29 $\pm$ 0,02	6,0	6,4
12	5,55 $\pm$ 0,54	1,23 $\pm$ 0,03	5,8	6,4
16	5,02 $\pm$ 0,49	1,24 $\pm$ 0,01	5,5	6,0
20	5,04 $\pm$ 0,42	1,21 $\pm$ 0,01	5,2	5,5
24	5,04 $\pm$ 0,47	1,24 $\pm$ 0,01	5,4	5,6
28	5,10 $\pm$ 0,68	1,39 $\pm$ 0,03	4,6	5,4

* Alter der Hennen in Tagen

PARSONS und COMBS (1981) bestimmten venöses Katheterblut, HAMILTON (1981) venöses Punktionsblut.

MILLER et al. (1977) sowie LUCK und SCANES (1979a) stellten wiederum fest, daß der Gesamtcalciumspiegel des Plasmas während eines Legezyklus konstant auf 8,5 mmol.l^{-1} bzw. 5,7 mmol.l^{-1} blieb.

Die Calciumionenkonzentration des venösen Blutes folgte während eines Legezyklus dem Verlauf einer Sinuskurve mit einem Maximum von ca. 1,60 mmol.l^{-1} 3-6 Stunden nach Eiablage und einem Minimum von ca. 1,14 mmol.l^{-1} 18-21 Stunden nach Eiablage (LUCK and SCANES, 1979a). Diese Abhängigkeit des ionisierten Calciumspiegels von der Position des Eies im

Eileiter bestätigten auch PARSONS und COMBS (1981). Sie beobachteten maximale Werte von $1,41 \text{ mmol.l}^{-1}$ 4 Stunden nach Eiablage und minimale Werte von $1,21 \text{ mmol.l}^{-1}$ 20 Stunden nach Eiablage (siehe Tab. 10).

Auf die außerordentlich große Bedeutung besonders des ionisierten Calciumspiegels auf die Fortpflanzungsaktivität von Legehennen wiesen LUCK und SCANES (1979b) hin. Wenn Hühner, die zuvor Eier gelegt hatten, ein calciumarmes Futter bekamen, stellten sie ihre Legetätigkeit ein, sobald die Calciumionenkonzentration im Blut unter $1,0 \text{ mmol.l}^{-1}$ fiel. Dies unterstützte ihre Annahme, daß es einen Schwellenwert für den ionisierten Calciumspiegel gibt, unter dem die Fortpflanzungsfähigkeit erlischt. Der Zusatz von Calcium zum Futter führte zu einem sofortigen Wiederanstieg der Calciumionenkonzentration im Blut, obwohl es einige Tage dauerte, bis der vorherige Gesamtcalciumspiegel wieder erreicht war und die Hennen wieder zu legen begannen.

STURKIE und NEWMAN (1951) bestimmten die Plasmaproteinkonzentration von Hühnern in Abhängigkeit vom Legezyklus und stellten fest, daß dieser weder einen Einfluß auf die Höhe des Gesamteiweißgehaltes des Blutes noch auf das Albumin/Globulin-Verhältnis hatte. Es besteht also ein Gleichgewicht zwischen der Proteinproduktion in der Leber und dem Proteinverbrauch bei der Eibildung.

2.6.5. Säure-Basen-Status

Die Konstanthaltung einer physiologischen Wasserstoffionenkonzentration ist für den Organismus lebenswichtig, da z.B. die Wirksamkeit von Enzymen und die Funktionsfähigkeit von Membranen nur innerhalb sehr enger pH-Grenzen garantiert ist. Auch der Prozentsatz von ionisiertem Calcium zum Gesamtcalcium hängt vom pH-Wert des Blutes ab (GIRDNT et al., 1979).

Für die Aufrechterhaltung des Gleichgewichts des Säure-Basen-Haushaltes stehen dem Körper in erster Linie drei Regulations-systeme zur Verfügung:

1. Die renale Elimination von Wasserstoffionen
2. Die pulmonale Elimination von Kohlendioxid und
3. Die Neutralisation durch Puffersysteme im Blut.

Die Puffersysteme des Blutes von Vögeln funktionieren ähnlich wie die von Säugetieren (NIGHTINGALE and FEDDE, 1972). Hühnerblut hat jedoch eine etwas niedrigere Pufferkapazität als das Blut von Säugetieren (MONGIN and MUELLER, 1973).

Die Henne nimmt eine Sonderstellung ein, insofern sie zyklische Veränderungen sowohl des Calciumspiegels als auch des Säure-Basen-Status in Abhängigkeit vom Legezyklus zeigt. Die Wasserstoffionenkonzentration des arteriellen und venösen Blutes der Schalendrüse schwankten in Abhängigkeit von der Aktivität des Organes (EL-SHARIF et al., 1975). Minimale arterio-venöse Differenzen herrschten während der Ruhephase der Schalendrüse (ca. 4 Stunden nach Eiablage) und maximale Unterschiede ca. 15 Stunden nach Eintritt eines Eies in den Uterus, zur Zeit der Hauptmineralisationsphase der Eischale (HODGES, 1969).

Als Ursache dafür wird die Wasserstoffionenbildung in der Mukosa der Schalendrüse bei der Carbonatbereitstellung angesehen.

Der intrazelluläre pH der Schalendrüse und der pH-Wert des Uterussekretes fielen vorübergehend ab (SIMKISS, 1969; MONGIN and SAVEUR, 1970). Der Übergang dieser ungewöhnlich großen Menge von Wasserstoffionen in den Blutkreislauf führte zu einer metabolischen Acidose (MONGIN and LACASSAGNE, 1966; HODGES, 1969, 1970; SIMKISS, 1975). Der pH des venösen Blutes fiel während der Eischalenverkalkung von 7,45 auf 7,39 ab (MONGIN and MUELLER, 1973).

MONGIN and LACASSAGNE (1964) zeigten, daß nicht nur der pH, sondern auch der Kohlendioxidpartialdruck und die Bicarbonatkonzentration des venösen Blutes 5 Stunden nach Eiablage am

höchsten und 22 Stunden nach Eiablage am niedrigsten waren. HAMILTON (1981) beobachtete in einem seiner Experimente auch einen pH-Wert-Abfall des venösen Blutes von 7,40 auf 7,35, der Kohlendioxidpartialdruck stieg jedoch von durchschnittlich 47,0 mmHg (5 Stunden nach Eiablage) auf 51,0 mmHg (22 Stunden nach Eiablage) an. In einem anderen Versuch verglich er die Wasserstoffionenkonzentration, den Kohlendioxidpartialdruck und die Bicarbonatkonzentration von 248 und 640 Tage alten Legehennen; er konnte jedoch keine direkte Abhängigkeit vom Legezyklus erkennen.

WIDEMAN und BUSS (1985b) bestimmten dieselben Parameter in arteriellem Katheterblut von zwei Linien von Single Comb White Leghorn Hennen, die verschieden starke Eischalen bildeten, in einem Zeitraum von 6 Stunden vor bis 10 Stunden nach Eiablage. Zur Zeit der Eiablage waren die Blutwerte beider Linien gleich, aber 2-6 Stunden danach hatten die Hühner, die dünne Eischalen bildeten, sowohl wesentlich niedrigere pH-Werte und Bicarbonatkonzentrationen als auch höhere Kohlendioxidpartialdrucke als die Hennen mit den dicken Eischalen. Die eine Gruppe von Hennen entwickelte also eine metabolische Acidose im Vergleich zu der anderen.

Es gibt Anzeichen, daß sowohl pulmonale als auch renale Regulationsmechanismen einsetzen um diese Acidose auszugleichen. MONGIN und LACASSAGNE (1966) haben gezeigt, daß während der Eischalenbildung durch Hyperventilation eine teilweise Kompensation der metabolischen Acidose eintritt.

ANDERSON (1967) und SIMKISS (1970) beobachteten in demselben Zeitraum einen Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration im Urin, was darauf hindeutet, daß auch eine renale Kompensation stattfindet.

Da die Bestimmung des Säure-Basen- und Blutgas-Status durch zahlreiche Faktoren verfälscht werden kann, ist es sehr schwierig reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Dies wird auch anhand der recht unterschiedlichen Daten in der Literatur ersichtlich.

Es wurden bereits mehrere Versuche unternommen über das Futter auf die Calciumkonzentration des Blutes und den Säure-Basen-Haushalt von Legehennen Einfluß zu nehmen um dadurch die Eischalenstabilität zu verbessern. Man versuchte die Pufferkapazität des Blutes durch eine Erhöhung der Bicarbonatkonzentration zu steigern um auf diese Weise die mit der Eischalenmineralisation verbundene metabolische Acidose möglichst gering zu halten oder ganz zu vermeiden. Über die Wirksamkeit dieser Methoden gehen die Meinungen jedoch auseinander.

Durch Beeinflussung der Elektrolytkonzentration im Futter kam es zu Veränderungen der Wasserstoffionen-, Bicarbonat- und Calciumkonzentration im Blut (COHEN et al., 1972; HURWITZ et al., 1973; COHEN and HURWITZ, 1974; RILEY and AUSTIC, 1984; BOOTZ, 1986), ohne daß sich jedoch dadurch die Eischalenstabilität verbesserte (HAMILTON and THOMPSON, 1980; HAMILTON et al., 1981; DAMMERT und GEISSLER, 1983; VOGT und HARNISCH, 1983). Andere Arbeitsgruppen dagegen glauben, daß eine Beeinflussung der Eischalenstabilität z.B. über die Elektrolyt- oder Bicarbonatkonzentration im Futter oder Trinkwasser möglich sei (MONGIN, 1980; MILES, 1982; ODOM, 1982; ODOM et al., 1985; BOTTJE and HARRISON, 1985).

2.6.6. Tageszeit

Um die Veränderungen der Calciumfraktionen im Blut in Abhängigkeit von der Tageszeit nicht durch andere Faktoren zu verdecken, dürfen legende Hennen nicht berücksichtigt werden und die Fütterung sollte ad libitum erfolgen. Bisher wurde in allen Untersuchungen ausschließlich venöses Punktionsblut analysiert.

HERTELENDY und TAYLOR (1961) verglichen die täglichen Schwankungen der Gesamtcalciumkonzentration von Legehennen mit denen von nicht legenden Hennen und konnten keine Abhängigkeit

des Calciumspiegels von der Tageszeit nachweisen.

ROLAND et al. (1972a) fanden heraus, daß sich der Gesamtcalciumspiegel im Serum von Legehennen im Laufe eines Tages in einer charakteristischen Weise veränderte. Er stieg von $4,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ um 8⁰⁰Uhr früh auf $5,2 \text{ mmol.l}^{-1}$ um 12⁰⁰Uhr mittags an und fiel anschließend wieder auf seinen Ausgangswert ab. Alle Werte waren am zweiten und dritten Tag etwas niedriger als am ersten, was sie auf den Blutvolumenverlust durch die Blutentnahme zurückführten.

Auch SLOAN et al. (1973) stellten fest, daß der Gesamtcalciumspiegel des Serums von Hühnern einem bestimmtem circadianem Rhythmus mit Maxima um 10⁰⁰ und 22⁰⁰ Uhr und Minima um 6⁰⁰ und 18⁰⁰ Uhr folgte. Die Schwankungen wurden jedoch geringer, wenn die Blutentnahme direkt nach Eiablage erfolgte.

PARSONS und COMBS (1981) bestimmten sowohl die Konzentration des ionisierten Calciums als auch des Gesamtcalciums im Blut von 4 Monate alten Hühnern (siehe Tab.11). Die Calciumionenkonzentration betrug maximal $1,39 \text{ mmol.l}^{-1}$ um 5³⁰ Uhr (90 Minuten vor Beginn der Helligkeit). Danach fiel sie auf $1,30 \text{ mmol.l}^{-1}$ ab und stieg erst um 19⁰⁰ Uhr wieder an. Der Gesamtcalciumspiegel veränderte sich parallel dazu, wobei die Schwankungen zwischen $2,04 \text{ mmol.l}^{-1}$ und $2,39 \text{ mmol.l}^{-1}$ jedoch statistisch nicht signifikant waren. Der Ionisationsgrad betrug relativ konstant 60%.

Tagesschwankungen des Gesamtproteingehaltes des Blutes wurden bei 12 Wochen alten Hennen nicht beobachtet (SIEGEL and LATIMER, 1980).

Tab. 11: Gesamtcalcium- und Calciumionenkonzentration (mmol.l^{-1}) in venösem Punktionsblut 4 Monate alter Hühner in Abhängigkeit von der Tageszeit. Ergebnisse von PARSONS und COMBS (1981). ($n = 10$; $\bar{x} \pm s$)

Uhrzeit	Ca _{Ges}	Ca ⁺⁺
5 ³⁰	2,28 $\pm$ 0,12	1,39 $\pm$ 0,02
7 ⁰⁰	2,22 $\pm$ 0,06	1,35 $\pm$ 0,01
10 ³⁰	2,16 $\pm$ 0,12	1,30 $\pm$ 0,01
13 ³⁰	2,04 $\pm$ 0,14	1,31 $\pm$ 0,03
16 ⁰⁰	2,22 $\pm$ 0,04	1,31 $\pm$ 0,01
19 ⁰⁰	2,35 $\pm$ 0,10	1,35 $\pm$ 0,01
23 ⁰⁰	2,38 $\pm$ 0,07	1,36 $\pm$ 0,01

2.6.7. Rasse, Jahreszeit, Umgebungstemperatur

Neben den oben genannten Faktoren, wie Alter, Geschlecht, Nahrungsaufnahme, Legezyklus, Säure-Basen-Status und Tageszeit, beeinflussen auch die Jahreszeit (ROLAND et al., 1975) und die Umgebungstemperatur die Calciumkonzentration im Blut von Hühnern.

Durch Hyperventilation bei hohen Umgebungstemperaturen entwickelt das Huhn eine respiratorische Alkalose (MARDER et al., 1974; DARRE et al., 1980; HARRISON et al., 1982).

ODOM et al. (1986) beobachteten einen Abfall der Calciumionenkonzentration im arteriellen Blut von $1,81 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $1,47 \text{ mmol.l}^{-1}$ nach Erhöhung der Umgebungstemperatur von 23°C auf 35°C . Zur Kompensation dieser Alkalose traten vermehrt organische Säuren, wie Milchsäure und Brenztraubensäure, im Blut auf, die mit den Calciumionen Komplexe bildeten. Es bestand eine negative Korrelation zwischen der Calciumionenkonzentration und dem Laktat- und Pyruvatgehalt des Blutes.

Der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas fällt bei steigender Umgebungstemperatur ab (El JACK et al., 1978).

Bei Broilern führt Hitze zur Abnahme der Plasmaproteine (WARD and PETERSON, 1973), dagegen steigt bei Legehennen der Gesamteiweißspiegel durch Hitze an, da die Legeleistung der Hennen sinkt und daher die Lipoproteine nicht so schnell verbraucht werden (El JACK et al., 1975).

Sowohl die Konzentration des ionisierten Calciums als auch des Gesamtcalciums variieren außerdem in Abhängigkeit von der Rasse und der Zuchtlinie der Hühner (SNAPIR and PEREK, 1970a; CLAGETT et al., 1977; COMBS et al., 1979; HAMILTON, 1981; GRUNDER et al., 1983; WIDEMAN and BUSS, 1985a,b).

Signifikante Unterschiede in der Gesamteiweißkonzentration des Blutes verschiedener Hühnerrassen wurden nicht festgestellt (WACHTER und SCHRÖCKSNADL, 1965; SCHELLNER, 1971).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. MATERIAL UND METHODEN

3.1.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Als Versuchstiere dienten Single Comb White Leghorn Hühner unterschiedlicher Altersgruppen. Die Tiere wurden auf Gitterrosten in Einzelkäfigen (0,64 m² Bodenfläche) gehalten. Die Raumtemperatur betrug ca. 19°C. Von 7⁰⁰ Uhr bis 19⁰⁰ Uhr war der Stall beleuchtet und von 19⁰⁰ Uhr bis 7⁰⁰ Uhr herrschte Dunkelheit. Futter und Wasser stand ad libitum zur Verfügung. Die Legehennen bekamen ein pelletiertes, handelsübliches Alleinfuttermittel mit 17,0% Rohprotein und 3,6% Calcium und zusätzlich Muschelschalenschrot. Die Jungtiere und die Hähne wurden mit einem Alleinfuttermittel mit 14,0% Rohprotein und 0,9% Calcium gefüttert.

3.1.2. Blutentnahmetechniken

Es wurden zwei verschiedene Techniken der Blutentnahme angewandt, die Gefäßpunktion und die Katheterisierung von Gefäßen.

3.1.2.1. Gefäßpunktion

Um eine einzelne venöse Blutprobe zu erhalten wurde entweder die rechte V.jugularis oder eine der beiden Vv.cutaneae ulnares punktiert. Dazu legten wir die Hühner auf die linke Seite bzw. auf den Rücken und stauten die Vene mit dem Daumen sowohl kurz vor als auch während der Punktion.

3.1.2.2. Die Katheterisierung von Gefäßen

Für Serien-Blutentnahmen wurden bei ausgewachsenen Hühnern sowohl arterielle als auch venöse Verweilkatheter gelegt. Die

nüchternen Tiere wurden mit Hypnodil^R (ein Imidazolderivat) narkotisiert. Eine intramuskuläre Injektion von 10-20 mg/kg Körpergewicht führte zu einer ca. 30 Minuten dauernden Narkose, welche jederzeit durch eine Nachdosierung verlängert werden konnte.

Ketanest^R (in einer Dosierung von 20-30 mg Ketamin/kg KG) hatte sich als ungeeignet für eine Allgemeinanästhesie erwiesen. Die narkotische Breite war zu gering und außerdem schiefen die Tiere sehr unruhig und zeigten heftige Exzitationen.

Die Katheter wurden folgendermaßen vorbereitet:

- a) Spülung mit heparinisierter physiologischer Kochsalzlösung (50 IE Heparin/ml Kochsalzlösung)
- b) Ankleben eines doppelten Leukosilkstreifens an den Konus zur Befestigung des Katheters an der Haut
- c) Der arterielle Katheter (Abbocath^R - T 24-Gx3/4" No. 4535-24; Abbott Hospitals, Inc., North Chicago, USA) wurde schräg angespitzt.
- d) Der venöse Katheter (Cavafix^R MT 358; B.Braun Melsungen AG, W.-Germany) wurde doppelschräg angespitzt und seitlich wurden zwei kleine Löcher gegenüberliegend und versetzt zueinander hineingeschnitten. Die Länge des venösen Katheters richtet sich nach der Größe des Huhnes. Bei Hennen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 1,6 kg betrug sie 10,0-10,5 cm und bei Hähnen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 2,5 kg betrug sie 12,0-12,5 cm. Die Spitze des Katheters sollte dabei jeweils kurz vor dem Herzen in der V.cava cranialis dextra zu liegen kommen.

Zur Katheterisierung der A.ulnaris wurde das Huhn auf den Rücken gelegt, ein Flügel abgespreizt und mit Leukoplast auf den Tisch geklebt. Nach Durchtrennung der Haut und der Fascie wurde der Gefäßstrang, bestehend aus A. und V.ulnaris freipräpariert. Um Blutungen zu vermeiden wurde die Vene distal

abgebunden. Bei untergelegter Pinzette (gebogene Augenpinzette) wurde die Arterie mit einer Gefäßschere schräg angeschnitten und der Katheter entgegen dem Blutstrom eingeführt. Der Katheter wurde mit einem Aufdrehstöpsel mit Gummieinlage zum Durchstechen verschlossen und mit heparinisierte physiologischer Kochsalzlösung gespült (0,2ml einer Lösung bestehend aus 50 IE Heparin in 1,0ml Kochsalzlösung). Zwei Ligaturen um den Katheter in der Arterie dichteten das Gefäß ab und verhinderten ein Herausrutschen des Katheters. Anschließend wurde der Katheter mit einer Achternaht um den Konus und mit zwei Knopfheften durch die Leukosilkflügel an der Haut befestigt. Nach Verschluss der Hautwunde mit einer Knopfnaht wurde ein Leukosilkverband um den Flügel angelegt, um den Stöpsel und die Naht zu verdecken und dadurch das Bepicken des Katheters zu verhindern.

Zur Katheterisierung der V.jugularis dextra wurde das Huhn auf die linke Seite gelegt und der Hals mit einem Polster unterstützt. Nach Durchtrennung der Haut und Freipräparation der V.jugularis dextra wurde das Gefäß cranial fest abgebunden und caudal wurden zwei Ligaturen lose um das Gefäß gelegt. Die Vene wurde zwischen der cranialen und den caudalen Ligaturen gespannt und in diesem Teil mit einer Gefäßschere schräg angeschnitten. Nach Einführen des Katheters wurden die beiden losen Ligaturen fest angezogen. Das weitere Vorgehen bezüglich der Fixation des Katheters und der Hautnaht war identisch mit dem der Arterie.

Als Nahtmaterial wurde Vicryl (2 metric, 3-0, Ethicon) verwendet. Wegen des narkosebedingten Wärmeverlustes und um die Tiere in der Nachschlafphase zu beruhigen, wurden sie in Zellstoff eingewickelt und unter eine Rotlichtlampe gelegt. Die erste Blutentnahme erfolgte 24 Stunden nach der Operation.

Die Hühner konnten sich mit beiden Kathetern frei im Käfig bewegen und ungestört Futter aufnehmen. Um jeglichen Streß bei der Handhabung möglichst zu vermeiden, war es wichtig, sie an die Person zu gewöhnen, die ihnen das Blut entnahm. Die Tiere kamen nach kurzer Zeit freiwillig auf den Arm und saßen bei der Blutentnahme aufrecht auf dem Schoß. Auf diese Weise bereitete die Blutentnahme keinerlei Schwierigkeiten, die Tiere waren nicht aufgeregt, zeigten keinerlei Schmerzreaktionen und konnten ihre physiologische Körperhaltung beibehalten.

Für die Blutentnahme wurden Einmalspritzen (1-5ml) verwendet, deren Totraum mit CaCl_2 -substituierter Heparinlösung (S 4500 Heparin, Radiometer, Kopenhagen) gefüllt wurde. Dies entspricht einer Heparinendkonzentration von 17-50 IE pro ml Blut. Die Blutentnahme erfolgte anaerob und die gefüllten Spritzen wurden sofort mit Plastikstöpseln verschlossen.

Um die Durchgängigkeit der Katheter zu bewahren wurden sie alle zehn Stunden mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und anschließend der Totraum mit heparinisierter Kochsalzlösung (50 IE Heparin pro ml Kochsalzlösung) aufgefüllt. Vor jeder Blutentnahme aus dem Katheter wurde dieses Totraumvolumen verworfen.

Die Blutentnahme an einem Tier erstreckte sich über einen Zeitraum von drei Tagen. Bei den Hähnen wurden pro Tag bis zu 12ml Blut entnommen. Die Hennen wurden wegen ihres geringeren Blutvolumens etwas geschont. Am ersten Tag wurden bis zu 10ml Blut entnommen, am zweiten Tag 4ml und am dritten Tag wieder 10 ml.

3.1.3. Versuchsplanung und Versuchsdurchführung

Um den Einfluß verschiedener physiologischer Faktoren auf das ioinisierte Calcium im Blut unter Berücksichtigung des

Gesamtcalciums, des Gesamtproteins sowie des Säure-Basen- und Blutgas-Status zu ermitteln, wurden mehrere Versuche durchgeführt.

3.1.3.1. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit vom Alter der Tiere

Da es bei Küken und Jungtieren technisch sehr schwierig ist, arterielle und venöse Verweilkatheter zu legen, wurde für den Altersvergleich venöses Blut durch Gefäßpunktion entnommen. Bei den männlichen Tieren untersuchten wir 3 Altersgruppen (3-6 Wochen, 9-12 Wochen und 24-27 Wochen). Bei den weiblichen Tieren zogen wir zusätzlich eine vierte Altersgruppe heran (78-81 Wochen). Die 25 und 80 Wochen alten Hennen legten Eier.

Die Blutentnahme erfolgte morgens und die Hühner waren 12 Stunden nüchtern.

3.1.3.2. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit vom Geschlecht

Für den Geschlechtsvergleich verwendeten wir bei den ausgewachsenen Hühnern Katheterblut und bei den jungen Tieren Punktionsblut. Die Blutentnahme erfolgte morgens am nüchternen Tier.

3.1.3.3. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme

Da bei legenden Hennen die Calciumionenkonzentration im Blut während eines Legezyklus extreme Schwankungen zeigt, welche eventuelle Veränderungen der Calciumfraktionen durch die Futteraufnahme verdecken könnten, wurden für diesen Versuch nur männliche, 25 Wochen alte Tiere herangezogen. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (8⁰⁰-9⁰⁰Uhr und 14⁰⁰-15⁰⁰Uhr). Die Futteraufnahme wurde beobachtet und es wurden nur

diejenigen Tiere berücksichtigt, die innerhalb dieser Zeit auch wirklich Futter zu sich nahmen. Wasser stand den Hähnen ad libitum zur Verfügung. Die Entnahme von arteriellem und venösem Blut erfolgte mittels Katheter und zwar 1 Stunde vor der ersten Fütterung (16 Stunden nüchtern), 1 und 4 Stunden nach der ersten sowie 1, 7 und 16 Stunden nach der zweiten Fütterung. Der ganze Versuch erstreckte sich über drei aufeinanderfolgende Tage.

3.1.3.4. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit vom Legezyklus

Zur Bestimmung der zu untersuchenden Parameter diente sowohl arterielles als auch venöses Katheterblut adulter Legehennen. Die Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Eiablagen betrug durchschnittlich 27 Stunden. Der Zeitpunkt der Eiablage wurde durch Beobachtung mit einer Genauigkeit von ca. einer Stunde bestimmt. Die Blutentnahmeintervalle betrugen 3-4 Stunden und wurden an den Legezyklus angepaßt.

3.1.3.5. Bestimmung des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Tageszeit

Wir verwendeten sowohl männliche als auch weibliche Tiere. Bei den Hennen wurden nur die Tiere berücksichtigt, die am Tag der Bestimmungen und 12 Stunden vorher und nachher kein Ei legten. Die Entnahme von arteriellem und venösem Katheterblut erfolgte um 7⁰⁰, 10⁰⁰, 13⁰⁰, 16⁰⁰, 19⁰⁰ und 23⁰⁰ Uhr.

Bei allen Verlaufsuntersuchungen über mehrere Tage wurde wegen des hohen Blutverlustes zur Plasmagewinnung der Gesamtcalcium- und der Gesamtproteingehalt nur bei jeder zweiten Blutentnahme mitbestimmt.

3.1.4. Verfahren zur Standardisierung von Probengewinnung und Probenbehandlung

Um Daten aus verschiedenen Versuchen miteinander vergleichen zu können, wurden die Auswirkungen unterschiedlicher Blutentnahmetechniken und einer unterschiedlichen Probenbehandlung untersucht.

3.1.4.1. Vergleich von Katheterblut und Punktionsblut

25 Wochen alte Hähne mit venösem Katheter (V.jugularis dextra) wurden sowohl 15 Minuten vor als auch 15 Minuten nach Blutentnahme aus dem Katheter venös punktiert (V.cutanea ulnaris). Um den möglichen Streß der Gefäßpunktion nicht durch den Gewöhnungseffekt an eine Person zu verdecken, wurde diese einmalige Punktion durch eine andere Person durchgeführt, als die, die den Tieren vertraut war.

3.1.4.2. Transport und Lagerung von Vollblutproben

Die gefüllten und verschlossenen Spritzen wurden unmittelbar nach der Blutentnahme in eine mit einem Eis-Wasser-Gemisch gefüllte Kühlbox gegeben (ca.4°C), in dieser transportiert und bis zur Analyse aufbewahrt. Die Bestimmung des ionisierten Calciums und der Blutgase im Vollblut erfolgte durchschnittlich 30 bis 90 Minuten nach der Blutentnahme. Um das Verhalten der Konzentration des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Lagerungstemperatur (4 bzw. 21°C) und der Lagerungsdauer zu ermitteln, wurden zusätzliche Analysen nach 2, 4, 8 und 24 Stunden durchgeführt.

3.1.4.3. Gewinnung und Lagerung von Plasma

Durchschnittlich 30 bis 90 Minuten nach der Blutentnahme wurden die heparinisierten Blutproben bei 1200 x g zentrifugiert und das überstehende Plasma mit Pasteurpipetten in ein

Eppendorf Reaktionsgefäß abpipettiert. Da es bei den Versuchsreihen mit Serien-Blutentnahmen über mehrere Tage nicht möglich war den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt der Blutproben sofort zu bestimmen wurde das Plasma bei -18°C tiefgefroren und nach ca. einer Woche analysiert.

Zum direkten Vergleich von Frischplasma und tiefgefrorenem Plasma diente venöses Punktionsblut von vier verschiedenen Gruppen von Hühnern (männlich: 3 Wochen alt, weiblich: 9, 25 und 80 Wochen alt) . Die Proben wurden zum erstenmal eine Stunde nach der Blutentnahme analysiert. Danach wurde das Plasma 8 Tage lang bei -18°C tiefgefroren und der Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt nochmals gemessen.

Alle Plasmaproben wurden bei Raumtemperatur (ca. 21°C) langsam aufgetaut. Um dem Entmischungseffekt durch den Gefriervorgang, bei dem sich das Calcium besonders in der unteren Hälfte des Eppendorf Reaktionsgefäßes ansammelt, entgegenzuwirken, wurde jede Probe zuerst 90 Sekunden lang gerüttelt (Gyromixer^R, Tekno Labo, Milano, Italy) und danach nochmals bei $1200 \times g$ zwei Minuten lang zentrifugiert, bevor sie bestimmt wurde.

3.1.4.4. Tonometrie

Die Äquilibrierung der Blutproben zur Bestimmung der Abhängigkeit der Konzentration des ionisierten Calciums von der Wasserstoffionenkonzentration unter in vitro-Bedingungen erfolgte mittels eines Kugeltonometers. Es wurden jeweils 1,5ml heparinisiertes Vollblut zehn Minuten lang begast. Als Äquilibrierungsgase wurden Eichgase der Fa.Linde mit einem Kohlendioxidgehalt von 4,0 und 8,0 Vol.% und entsprechend einem Sauerstoffgehalt von 96,0 und 92,0 Vol.% verwendet. Die Gasgemische wurden mit Wasserdampf gesättigt um eine Probeneindickung zu vermeiden. Sowohl die Gasbefeuchter als auch die Äquilibriergefäße befanden sich in einem temperierten Wasserbad. Die Temperatur des Wasserbades richtete sich nach der Körpertemperatur der Tiere und betrug beim Huhn

durchschnittlich 41°C. Die Kugeltonometer wurden im Wasserbad ständig leicht geschüttelt zur Erzeugung einer möglichst großen Kontaktfläche zwischen Äquilibriergas und Blutprobe.

3.1.5. Arten der Probenanalyse

Zur Bestimmung der Blutgase und des ionisierten Calciums wurde Vollblut verwendet und zur Messung des Gesamtcalciums und des Gesamtproteins diente Plasma. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

3.1.5.1. Bestimmung des Säure-Basen- und Blutgas-Status

Die Bestimmung des Säure-Basen- und Blutgas-Status im Vollblut erfolgte mittels eines Blutgas-Analysators (ABL 300 der Firma Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Dieser Analysator ist ein vollautomatisches Meßgerät für die in vitro- Bestimmung des Säure-Basen- und Blutgas-Status im Vollblut, Plasma und Serum. Durch intergierte Eichstandards und Eichgase erfolgt eine automatische Standardisierung der verschiedenen Elektrodensysteme (pH, pCO₂, pO₂). Die Analyse der Proben läuft unter streng anaeroben Bedingungen ab. Die Qualitätskontrolle erfolgte täglich vor und nach den Versuchsserien durch Analyse von Standards (Blood Gas Qualitycheck^R-Firma Radiometer).

Gemessen wurde bei 37°C und alle Daten wurden anschließend entsprechend der Temperatureingabe, die sich nach der inneren Körpertemperatur der Hühner richtete, auf 41°C umgerechnet.

Zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit wurden 20 Vergleichsmessungen einer Blutprobe durchgeführt. Die Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse dieses Versuches.

Tab. 12: Ergebnisse von 20 Bestimmungen einer Blutprobe mit dem Blutgas-Vollautomat ABL 300 ($n = 20$; $\bar{x} \pm s$).

Temperatur	pH	pCO ₂ (mmHg)
37°C	7,438 $\pm$ 0,003	43,3 $\pm$ 0,6
41°C	7,378 $\pm$ 0,002	52,6 $\pm$ 0,7

3.1.5.2. Bestimmung des ionisierten Calciums

Die Bestimmung des ionisierten Calciums erfolgte mittels ionenselektiver Elektroden. Der Analysator für ionisiertes Calcium (ICA 1, Firma Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) wurde an den Blutgas-Analysator angeschlossen. Der ICA 1 ist ein computergesteuertes System, das die Konzentration von ionisiertem Calcium und den pH-Wert in Vollblut, Plasma oder Serum mißt. Die Analyse erfolgt unter streng anaeroben Bedingungen. Das Gerät wurde alle zwei Stunden kalibriert und eine Qualitätskontrolle unter Verwendung der dazugehörigen Qualicheck^R-Lösungen erfolgte zweimal täglich.

Technische Daten des ICA 1:

Elektrode	ionenselektiv für Calcium
Meßbereich	0,20-5,00 mmol.l ⁻¹
Ablesegenauigkeit	0,01 mmol.l ⁻¹
Meßtemperatur	37,0 $\pm$ 0,1°C
Meßzeit	ca. 1,5 Minuten
Probenvolumen	0,125 ml Vollblut, Plasma oder Serum
Meßbereich pH	6,00-8,00

Die Tabelle 13 zeigt die Ergebnisse von 20 Vergleichsmessungen einer Blutprobe zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit.

Tab.13: Ergebnisse von 20 Vergleichsmessungen einer Blutprobe mit dem ICA 1 ($n = 20$; $\bar{x} \pm s$)

Ca^{++} (mmol.l ⁻¹)	pH
$1,42 \pm 0,02$	$7,45 \pm 0,003$

3.1.5.3. Bestimmung des Gesamtcalciums

Der Gesamtcalciumgehalt der Plasmaproben wurde mit einem Flammenemissionsphotometer (Eppendorf FCM 6341) gemessen. Dieses Verfahren beruht auf der Lichtemission des in eine Flamme zerstäubten Elements, wobei die emittierte Lichtmenge proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Elements in der Probe ist.

3.1.5.4. Bestimmung des Gesamtproteins

Die quantitative Bestimmung des Gesamtproteingehaltes der Plasmaproben erfolgte mit der Biuretmethode in einem Auto Analyser (Hitachi). Diese Reaktion beruht auf der Anlagerung von Kupferionen im alkalischen pH-Bereich an die Peptidbindungen der Proteine. Die Intensität der entstehenden violetten Farbe ist der Zahl der Peptidbindungen und damit der Proteinkonzentration in einem weiten Bereich proportional und wird photometrisch gemessen. Das Extinktionsmaximum liegt bei 545 nm.

3.1.6. Statistische Auswertung der Resultate

Aus den erhaltenen Meßdaten wurde der arithmetische Mittelwert ($\bar{x}$) und die Standardabweichung ($\pm s$) errechnet.

Für die Entscheidung, ob die zwischen zwei Stichproben bestehenden Unterschiede rein zufällig oder statistisch signifikant waren, wurde der t-Test durchgeführt mit folgendem

Signifikanzniveau: * : $0,05 \geq p > 0,01$,

** : $0,01 \geq p > 0,001$ und

***: $p \leq 0,001$.

3.2. ERGEBNISSE

3.2.1. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration im Blut von verschiedenen methodischen Faktoren

3.2.1.1. Auswirkungen verschiedener Blutentnahmetechniken auf die Calciumionenkonzentration, den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt, den pH-Wert und den Kohlendioxidpartialdruck des venösen Blutes

Die Blutentnahmebedingungen haben einen entscheidenden Einfluß auf die Höhe zahlreicher Blutparameter. Die möglichen Folgen, die z.B. durch den Streß und die Venostase bei der Gefäßpunktion entstehen, kann man durch die Katheterisierung von Gefäßen vermeiden.

Da für Hühner noch keine Angaben über einen direkten Vergleich verschiedener Blutentnahmetechniken von ein und demselben Tier in Bezug auf die Konzentration von ionisiertem Calcium, Gesamtcalcium und Gesamtprotein und bezüglich des pH-Wertes und des Kohlendioxidpartialdruckes vorliegen, führten wir zwei Versuchsreihen durch.

Die Tabelle 14 gibt Aufschluß über die Ergebnisse des Vergleichs von venösem Katheterblut und Punktionsblut von 25 Wochen alten Hähnen. Die Reihenfolge der Blutentnahme spielte dabei keine Rolle. Das Punktionsblut wies jeweils eine signifikant höhere Konzentration von ionisiertem Calcium, Gesamtcalcium und Wasserstoffionen sowie einen höheren Kohlendioxidpartialdruck auf als das Katheterblut. Der Proteingehalt des Punktionsblutes war im Vergleich zu dem des Katheterblutes ebenfalls erhöht, statistisch gesehen unterschieden sie sich jedoch nicht signifikant.

Tab. 14 : Ergebnisse eines Vergleiches von venösem Katheterblut und Punktionsblut von 25 Wochen alten Hähnen in Bezug auf die Konzentration von ionisiertem Calcium, Gesamtcalcium und Gesamtprotein sowie bezüglich des pH-Wertes und des Kohlendioxidpartialdruckes.

(n = 10; $\bar{x} \pm s$; *: 0,05 $\geq$ p > 0,01;
 : 0,01 $\geq$ p > 0,001; *: p $\leq$ 0,001)

Art und Reihenfolge der Blutentnahme:				
Parameter:	A		B	
	Katheter	venöse Punktion (15 Min. später)	venöse Punktion	Katheter (15 Min. später)
Ca ⁺⁺ (mmol.l ⁻¹)	1,33 $\pm 0,02$	1,38 ** $\pm 0,02$	1,38 $\pm 0,03$	1,33 ** $\pm 0,03$
Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)	2,64 $\pm 0,10$	2,83 *** $\pm 0,11$	2,82 $\pm 0,10$	2,60 *** $\pm 0,06$
Ionisations- grad	50,4%	48,8%	48,9%	51,2%
P _{Ges} -1) (g.l ⁻¹)	40,6 $\pm 1,6$	41,3 $\pm 2,7$	41,4 $\pm 2,4$	39,4 $\pm 2,2$
pH	7,42 $\pm 0,04$	7,33 *** $\pm 0,03$	7,34 $\pm 0,04$	7,44 *** $\pm 0,03$
pCO ₂ (mmHg)	35,5 $\pm 3,4$	45,3 *** $\pm 4,5$	44,6 $\pm 4,3$	33,7 *** $\pm 3,0$

Im Katheterblut lagen bei einem Gesamtcalciumgehalt von durchschnittlich $2,62 \pm 0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$ und einer Calciumionenkonzentration von $1,33 \pm 0,02 \text{ mmol.l}^{-1}$ 50,8% des Calciums in ionisierter Form vor. Der pH betrug $7,43 \pm 0,03$, der pCO_2 durchschnittlich 34,6 mmHg und die Gesamtproteinkonzentration durchschnittlich $40,0 \text{ g.l}^{-1}$.

Bei einer Gesamtcalciumkonzentration von $2,82 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ und einer Calciumionenkonzentration von $1,38 \pm 0,02 \text{ mmol.l}^{-1}$ betrug der Ionisationsgrad im Punktionsblut 48,9%. Der pH-Wert unterschied sich um 0,09 Einheiten und der pCO_2 um durchschnittlich 10,3 mmHg, wobei im Punktionsblut im Vergleich zum Katheterblut eine Azidose vorlag. Die Gesamtproteinkonzentration des Punktionsblutes war mit $41,3 \pm 2,5 \text{ g.l}^{-1}$ um durchschnittlich $1,3 \text{ g.l}^{-1}$ höher als im Katheterblut.

3.2.1.2. Einfluß der Lagerung von Vollblutproben unter verschiedenen Temperaturbedingungen

Aus Abbildung 3 ist zu ersehen, daß sich weder die Konzentration des ionisierten Calciums, noch der pH-Wert und der Kohlendioxidpartialdruck von heparinisierten Vollblutproben von Hühnern in verschlossenen Plastikspritzen signifikant veränderten bei einer Lagerungstemperatur von 4°C und einer Lagerungsdauer von 24 Stunden. Es konnte ein geringer Abfall der Calciumionenkonzentration von $1,61 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $1,59 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ und des pH-Wertes von $7,33 \pm 0,10$ auf $7,31 \pm 0,10$ sowie ein Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes von $51,3 \pm 6,5 \text{ mmHg}$ auf $54,9 \pm 5,6 \text{ mmHg}$ festgestellt werden.

Wurden die Vollblutproben jedoch bei einer Umgebungstemperatur von 21°C 24 Stunden lang aufbewahrt, kam es zu signifikanten Veränderungen aller gemessenen Parameter. Die Konzentration des ionisierten Calciums stieg auf $1,68 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ an. Der pH-Wert fiel von der zweiten Stunde bis zur 24. Stunde ziemlich konstant ab bis auf $7,13 \pm 0,10$. Diese Erniedrigung

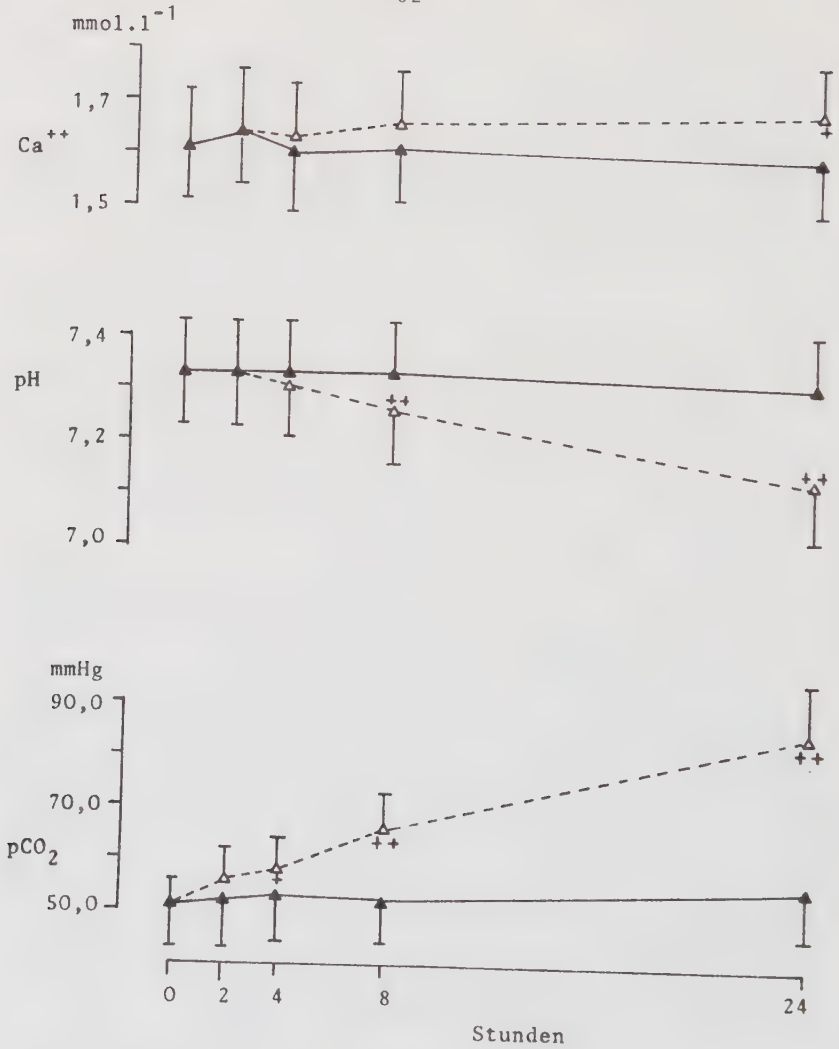


Abb. 3: Einfluß unterschiedlicher Lagerungsdauer und -temperatur auf die Konzentration des ionisierten Calciums, den pH-Wert und den Kohlendioxidpartialdruck in anaerob gelagerten Vollblutproben von Hennen.
 (▲ = 4°C; △ = 21°C; n = 14; $\bar{x} \pm s$)
 (+: 0,05 p 0,01; ++: 0,01 p 0,001)

war nach 8 Stunden signifikant. Der Kohlendioxidpartialdruck stieg um 33,8 mmHg auf $85,1 \pm 9,2$ mmHg an. Der Anstieg erfolgte nahezu linear und war bereits nach 4 Stunden signifikant.

3.2.1.3. Gesamtcalcium- und Gesamtproteinkonzentration in frischem und tiefgefroren gelagertem Plasma

Um die Veränderungen des Gesamtcalcium- und des Gesamtproteingehaltes durch den Gefriervorgang zu ermitteln, wurden Plasmaproben sowohl frisch bestimmt, als auch nachdem sie 7 Tage bei -18°C tiefgefroren waren.

Die Tabellen 15 und 16 geben Aufschluß über die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe.

Da die Proben sehr unterschiedliche Gesamtcalcium- und Gesamtproteinausgangskonzentrationen aufwiesen, wurden die prozentualen Veränderungen während der Tiefkühlagerung berechnet. Sie lagen bei allen Proben im Bereich von 3,2-7,2% bzw. 3,9-6,3%. Die Gesamtcalciumkonzentration war in den aufgetauten Plasmaproben um durchschnittlich 5,1% und die Gesamtproteinkonzentration um durchschnittlich 5,0% niedriger als in den Frischplasmaproben.

Bei den Proben der 3 Wochen alten männlichen Tieren zeigten sich nach 7-tägiger Aufbewahrung bei -18°C signifikante Erniedrigungen der Gesamtcalciumkonzentration um $0,19 \text{ mmol.l}^{-1}$ und der Gesamtproteinkonzentration um $1,6 \text{ g.l}^{-1}$.

Bei den weiblichen Tieren traten diese Veränderungen zwar im gleichen Maße auf, sie waren aber wegen der breiten Streuung der Ausgangswerte nur im Falle des Gesamtcalciums bei den 9 Wochen alten Tiere und des Gesamtproteins bei den 25 Wochen alten Tiere statistisch signifikant. Die Gesamtcalciumkonzentration des Plasmas fiel während der Lagerung von $2,78 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ um $0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$ bei den 9 Wochen alten Hühnern, von $5,87 \pm 1,47 \text{ mmol.l}^{-1}$ um $0,30 \text{ mmol.l}^{-1}$ bei den 25 Wochen alten Hennen und von $5,95 \pm 1,36 \text{ mmol.l}^{-1}$ um $0,19 \text{ mmol.l}^{-1}$ bei den 80 Wochen alten Hennen ab.

Tab. 15: Gesamtcalciumkonzentration (mmol.l^{-1}) in frischem Plasma und aufgetautem Plasma, das ca. eine Woche bei -18°C tiefgefroren war.

(n = 14; $\bar{x} \pm s$; *: $0,05 \geq p > 0,01$;
**: $0,01 \geq p > 0,001$)

Alter und Geschlecht der Hühner	3 Wochen männlich	9 Wochen weiblich	25 Wochen weiblich	80 Wochen weiblich
frisches Plasma	2,65 $\pm 0,05$	2,78 $\pm 0,10$	5,87 $\pm 1,47$	5,95 $\pm 1,36$
tiefgefroren gelagertes Plasma	2,46 ** $\pm 0,08$	2,64 * $\pm 0,14$	5,57 $\pm 1,62$	5,76 $\pm 1,47$

Tab. 16: Gesamtproteingehalt (g.l^{-1}) in frischem Plasma und aufgetautem Plasma, das ca. eine Woche bei -18°C gelagert wurde.

(n = 14; $\bar{x} \pm s$; *: $0,05 \geq p > 0,01$)

Alter und Geschlecht der Hühner	3 Wochen männlich	9 Wochen weiblich	25 Wochen weiblich	80 Wochen weiblich
frisches Plasma	29,4 $\pm 1,3$	40,0 $\pm 4,1$	55,7 $\pm 4,3$	61,8 $\pm 6,2$
tiefgefroren gelagertes Plasma	27,8 * $\pm 1,5$	38,2 $\pm 4,5$	52,2 * $\pm 3,6$	59,4 $\pm 6,3$

Die entsprechenden Differenzen der Plasmaproteinkonzentrationen betrugen $1,8 \text{ g.l}^{-1}$, $3,5 \text{ g.l}^{-1}$ und $2,4 \text{ g.l}^{-1}$.

3.2.1.4. Verhalten der Konzentration des ionisierten Calciums in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration unter in vitro-Bedingungen

Durch Äquilibrierung der Vollblutproben mit unterschiedlichen kohlendioxidhaltigen Gasgemischen unter in vitro- Bedingungen kam es zu einer Veränderung der Konzentration des ionisierten Calciums. Die Calciumionenkonzentration des Blutes stieg mit Erhöhung der Kohlendioxidkonzentration von durchschnittlich $1,55 \pm 0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($4,0 \text{ Vol.}\% \text{ CO}_2$) auf $1,62 \pm 0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($8,0 \text{ Vol.}\% \text{ CO}_2$) an. In dem pH-Bereich von 7,2 bis 7,7 nahm der ionisierte Calciumspiegel um $0,04 \text{ mmol.l}^{-1}$ zu, wenn der pH-Wert um 0,1 Einheiten abfiel (siehe Abb. 4).

3.2.2. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration im Blut von verschiedenen physiologischen Faktoren bei Berücksichtigung der Gesamtcalcium-, Gesamtprotein- und Wasserstoffionenkonzentration und des Kohlendioxidpartialdruckes

3.2.2.1. Konzentration des ionisierten Calciums im arteriellen und venösen Blut

Die Tabellen 17 a-d enthalten eine vergleichende Zusammenstellung der von uns gemessenen Werte ($\bar{x} \pm s$) für das ionisierte Calcium im Vollblut, für den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt im Plasma und für den prozentualen Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium im Vollblut unter Berücksichtigung von pH und $p\text{CO}_2$ im arteriellen und venösen Blut von Hühnern.

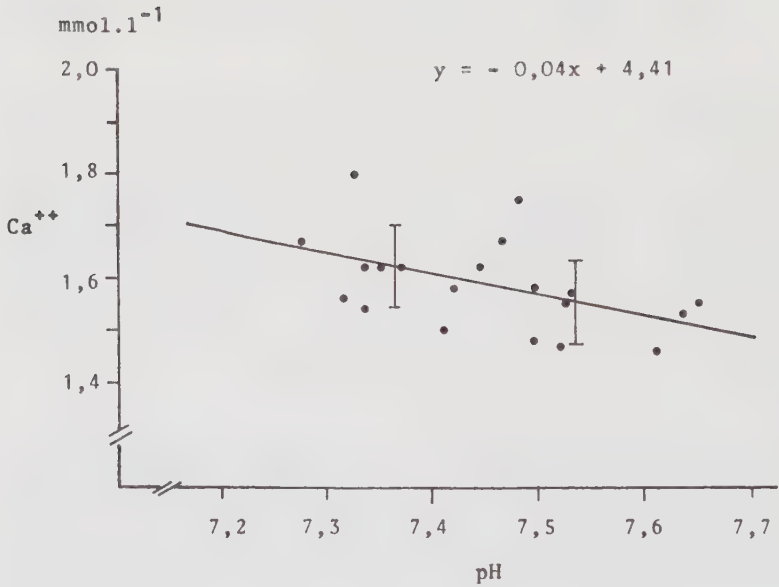


Abb. 4: Das Verhältnis zwischen ionisiertem Calcium und pH-Wert in Vollblutproben von adulten Hennen gemessen nach Äquilibration mit zwei unterschiedlichen Eichgasen bei einem Restsauerstoff von 96,0 und 92,0 Vol.%. (n = 10)

Tab. 17: Calciumionenkonzentration, Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt, pH-Wert und Kohlendioxidpartialdruck im venösen und arteriellen Katheterblut:
(*: $0,05 \geq p > 0,01$; **: $0,01 \geq p > 0,001$;
***: $p \leq 0,001$)

a) - von 25 Wochen alten Hähnen (n = 30)

	Ca ⁺⁺ (mmol.l ⁻¹)	Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)	Ionisa- tions- grad	P _{Ges} (g.l ⁻¹)	pH	pCO ₂ (mmHg)
venös	1,34 ±0,04	2,63 ±0,14	50,9%	40,4 ±2,1	7,43 ±0,02	35,6 ±3,8
arteriell	1,27 ** ±0,05	2,52 ** ±0,15	50,5%	38,0 ** ±2,5	7,50 ±0,04	24,0 ±4,0
Differenz	0,07	0,11		2,4	0,07	11,6

b) - von 80 Wochen alten Hähnen (n = 24)

venös	1,37 ±0,05	2,85 ±0,11	48,1%	44,5 ±4,4	7,41 ±0,03	41,4 ±4,5
arteriell	1,30 ** ±0,06	2,72 ** ±0,15	47,8%	41,7 * ±3,9	7,49 ±0,03	29,5 ±3,9
Differenz	0,07	0,13		2,8	0,08	11,9

c) - von 25 Wochen alten Hennen (n = 27)

venös	1,45 ±0,12	3,75 ±0,95	38,7%	43,5 ±4,5	7,43 ±0,04	36,2 ±5,1
arteriell	1,36 ±0,12	3,53 ±0,94	38,5%	41,3 ±4,3	7,52 ±0,03	24,8 ±3,5
Differenz	0,09	0,22		2,2	0,09	11,4

d) - von 80 Wochen alten Hennen (n = 27)

	Ca ⁺⁺ (mmol.l ⁻¹)	Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)	Ionisa- tions- grad	P _{Ges} (g.l ⁻¹)	pH	pCO ₂ (mmHg)
venös	1,44 ±0,09	3,89 ±0,76	37,0%	49,3 ±5,0	7,42 ±0,05	42,3 ±4,0
arteriell	1,36 * ±0,09	3,67 ±0,66	37,0%	46,5 * ±4,2	7,49 ±0,05	29,8 ±3,8
Differenz	0,08	0,22		2,8	0,07	12,5

Es wurden vier verschiedene Tiergruppen untersucht, 25 und 80 Wochen alte männliche und weibliche Tiere.

Bei den 25 Wochen alten Hähnen wies das venöse Blut eine Gesamtproteinkonzentration von $40,4 \pm 2,1 \text{ g.l}^{-1}$ und eine Gesamtcalciumkonzentration von $2,63 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf. Bei einer Calciumionenkonzentration von $1,34 \pm 0,04 \text{ mmol.l}^{-1}$ lagen 50,9% des Calciums in ionisierter Form vor.

Obwohl das venöse Blut der 80 Wochen alten Hähne eine um $0,03 \text{ mmol.l}^{-1}$ höhere Calciumionenkonzentration, eine um $0,22 \text{ mmol.l}^{-1}$ höhere Gesamtcalciumkonzentration und eine um $4,1 \text{ g.l}^{-1}$ höhere Gesamtproteinkonzentration hatte, waren die arterio-venösen Differenzen fast identisch. Sie betrugen durchschnittlich $-0,07 \text{ mmol.l}^{-1}$ für das ionisierte Calcium, $-0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$ für das Gesamtcalcium und $-2,6 \text{ g.l}^{-1}$ für das Gesamtprotein, wobei dem arteriellen Blut die niedrigeren Werte zuzuschreiben waren.

Im venösen Blut der jüngeren Hähne herrschte ein Kohlendioxidpartialdruck von $35,6 \pm 3,8 \text{ mmHg}$ im Vergleich zu

41,4 $\pm$ 4,5 mmHg bei den älteren Tieren. Bei beiden Gruppen lag der Kohlendioxidpartialdruck des arteriellen Blutes um etwa 11,7 mmHg unter dem des venösen Blutes. Der pH-Wert des venösen Blutes betrug 7,43 $\pm$ 0,02 (25 Wochen) bzw. 7,41 $\pm$ 0,03 (80 Wochen) und der des arteriellen Blutes 7,50 $\pm$ 0,04 bzw. 7,49 $\pm$ 0,03.

Der Gesamtproteingehalt des venösen Blutes der 25 Wochen alten Hennen lag mit 43,5 $\pm$ 4,5 g.l⁻¹ und der der 80 Wochen alten Hennen mit 49,3 $\pm$ 5,0 g.l⁻¹ um durchschnittlich 2,5 g.l⁻¹ über dem des arteriellen Blutes.

Der Säure-Basen- und Blutgas-Status der Hennen wich nicht wesentlich von dem der Hähne ab. Der Kohlendioxidpartialdruck des venösen Blutes unterschied sich um durchschnittlich 11,9 mmHg von dem des arteriellen Blutes und der pH-Wert um 0,08 Einheiten.

Bei einer Calciumionenkonzentration von durchschnittlich 1,44 mmol.l⁻¹ im venösen Blut betrug die arterio-venöse Differenz -0,08 mmol.l⁻¹. Die Gesamtcalciumkonzentration lag im venösen Blut sowohl bei den 25 Wochen alten Hennen (3,75 $\pm$ 0,95 mmol.l⁻¹) als auch bei den 80 Wochen alten Hennen (3,89 $\pm$ 0,76 mmol.l⁻¹) um 0,22 mmol.l⁻¹ höher als im arteriellen Blut.

Der prozentuale Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium lag im venösen Blut bei den Hennen mit durchschnittlich 37,8% um 0,1% und bei den Hähnen mit durchschnittlich 49,5% um 0,4% über dem des arteriellen Blutes.

Zwischen der Konzentration des Gesamtcalciums und des ionisierten Calciums ließ sich weder bei den Hennen ($r = 0,32$) noch bei den Hähnen ($r = 0,18$) eine engere Korrelation ermitteln.

3.2.2.2. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom Alter der Tiere

Bei Hühnern hat das Lebensalter einen entscheidenden Einfluß auf die Calciumionenkonzentration des Blutes, den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt sowie auf den Säure-Basen- und Blutgas-Status. Da sich der Calciumstoffwechsel von weiblichen Tieren mit dem Eintritt der Geschlechtsreife und dem Beginn der Legetätigkeit von dem der Hähne unterscheidet, sollten für einen Altersvergleich die männlichen und weiblichen Tiere getrennt voneinander betrachtet werden.

Die Tabellen 18a und 18b geben Aufschluß über die Altersabhängigkeit der oben genannten Blutparameter. Für alle Analysen wurde ausschließlich venöses Punktionsblut herangezogen.

Bei den Hähnen stieg die Gesamtcalciumkonzentration von $2,65 \pm 0,07 \text{ mmol.l}^{-1}$ mit 3 Wochen auf $2,85 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ mit 25 Wochen an. Da der ionisierte Calciumspiegel relativ konstant auf etwa $1,43 \pm 0,05 \text{ mmol.l}^{-1}$ blieb, fiel der Ionisationsgrad des Calciums von 54,0% auf 49,1% ab. Parallel dazu stieg die Plasmaproteinkonzentration von $29,5 \pm 1,4 \text{ g.l}^{-1}$ auf $42,6 \pm 3,7 \text{ g.l}^{-1}$ und der Kohlendioxidpartialdruck von $39,6 \pm 4,0 \text{ mmHg}$ auf $47,9 \pm 1,7 \text{ mmHg}$ an. Der pH-Wert fiel von $7,40 \pm 0,04$ auf $7,33 \pm 0,09$ ab.

Bei den Hennen war mit dem Beginn der Legetätigkeit ein Anstieg der ionisierten Calciumfraktion im Vollblut von $1,45 \pm 0,04 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf durchschnittlich $1,58 \pm 0,13 \text{ mmol.l}^{-1}$ zu erkennen. Der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas stieg um mehr als das Doppelte von durchschnittlich $2,73 \pm 0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$ auf $5,92 \pm 1,42 \text{ mmol.l}^{-1}$ an, bei gleichzeitiger Erhöhung der Gesamtproteinkonzentration von durchschnittlich $38,8 \pm 4,0 \text{ g.l}^{-1}$ auf $57,7 \pm 5,2 \text{ g.l}^{-1}$. Der Ionisationsgrad des Calciums fiel von 53,1% auf 26,7% ab. Die pH- und pCO_2 -Veränderungen waren

Tab. 18: Konzentration des ionisierten Calciums, des Gesamtcalciums und des Gesamtproteins sowie Kohlendioxidpartialdruck und pH-Wert im venösen Blut:

a) - von Hähnen unterschiedlichen Alters
(n = 15-18; $\bar{x} \pm s$)

Alter	Ca ⁺⁺ (mmol.l ⁻¹)	Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)	Ionisa- tions grad	P _{Ges} (g.l ⁻¹)	pH	pCO ₂ (mmHg)
3 Wochen	1,43 $\pm 0,03$	2,65 ^a $\pm 0,07$	54,0%	29,5 ^a $\pm 1,4$	7,40 ^a $\pm 0,04$	39,6 ^a $\pm 4,0$
9 Wochen	1,45 $\pm 0,06$	2,73 ^b $\pm 0,13$	53,1%	32,5 ^b $\pm 2,4$	7,36 $\pm 0,05$	41,9 ^a $\pm 4,8$
25 Wochen	1,40 $\pm 0,05$	2,85 ^c $\pm 0,10$	49,1%	42,6 ^c $\pm 3,7$	7,33 ^b $\pm 0,09$	47,9 ^b $\pm 1,7$

b) - von Hennen unterschiedlichen Alters
(n = 15-20; $\bar{x} \pm s$)

6 Wochen	1,45 ^a $\pm 0,04$	2,68 ^a $\pm 0,14$	54,1%	37,6 ^a $\pm 3,0$	7,35 ^a $\pm 0,04$	40,2 ^a $\pm 2,5$
9 Wochen	1,45 ^a $\pm 0,04$	2,78 ^b $\pm 0,10$	52,2%	40,0 ^a $\pm 5,1$	7,37 $\pm 0,04$	39,2 ^a $\pm 2,9$
25 Wochen	1,59 ^b $\pm 0,14$	5,87 ^c $\pm 1,47$	27,1%	54,7 ^b $\pm 4,3$	7,34 $\pm 0,07$	48,0 ^b $\pm 6,4$
80 Wochen	1,57 ^b $\pm 0,13$	5,97 ^c $\pm 1,36$	26,4%	60,8 ^c $\pm 6,2$	7,31 ^b $\pm 0,04$	51,0 ^b $\pm 5,0$

a,b,c zwischen Zahlen mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte besteht ein signifikanter Unterschied
(p $\leq$ 0,05)

ähnlich wie die der männlichen Tiere. Der pH-Wert fiel von durchschnittlich $7,36 \pm 0,04$ auf $7,32 \pm 0,05$ ab und der $p\text{CO}_2$ stieg von $39,7 \pm 2,7$ mmHg auf $49,5 \pm 5,7$ mmHg an.

3.2.2.3. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom Geschlecht

Für den Geschlechtsvergleich wurden sowohl venöses Punktionsblut als auch arterielles und venöses Katheterblut nüchterner Hennen und Hähne analysiert.

Abbildung 5 zeigt die Calciumionenkonzentration und den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt im venösen Punktionsblut von männlichen und weiblichen Tieren.

Während der Wachstumsphase bestanden keine Unterschiede bezüglich der Konzentration des ionisierten Calciums und des Gesamtcalciums zwischen Hähnen und Hennen. Bei einer Gesamtcalciumkonzentration von durchschnittlich $2,71 \text{ mmol.l}^{-1}$ und einer Calciumionenkonzentration von durchschnittlich $1,44 \text{ mmol.l}^{-1}$ betrug der Ionisationsgrad des Calciums 53,1%. Nach dem Erreichen der Geschlechtsreife und dem Beginn der Legetätigkeit mit ca. 25 Wochen lag bei den Hennen der ionisierte Calciumspiegel des venösen Blutes ($1,59 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$) um 12,9% und der Gesamtcalciumspiegel ($5,87 \pm 1,47 \text{ mmol.l}^{-1}$) um 106,0% höher als bei den Hähnen. Nur 27,1% des gesamten Calciums wurden in ionisierter Form vorgefunden im Vergleich zu 49,1% bei den Hähnen.

Der Gesamtproteingehalt des Plasmas unterschied sich bereits bei den Jungtieren. Bei den männlichen Tieren war er um durchschnittlich 26,3% niedriger als bei den weiblichen.

Wurde dem Geschlechtsvergleich Katheterblut zugrunde gelegt (siehe Abb. 6), dann waren die Unterschiede im Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt zwischen Hähnen und Hennen um ca. 65% geringer. Bei einer Calciumionenkonzentration von durchschnittlich $1,35 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen und $1,28 \text{ mmol.l}^{-1}$ im

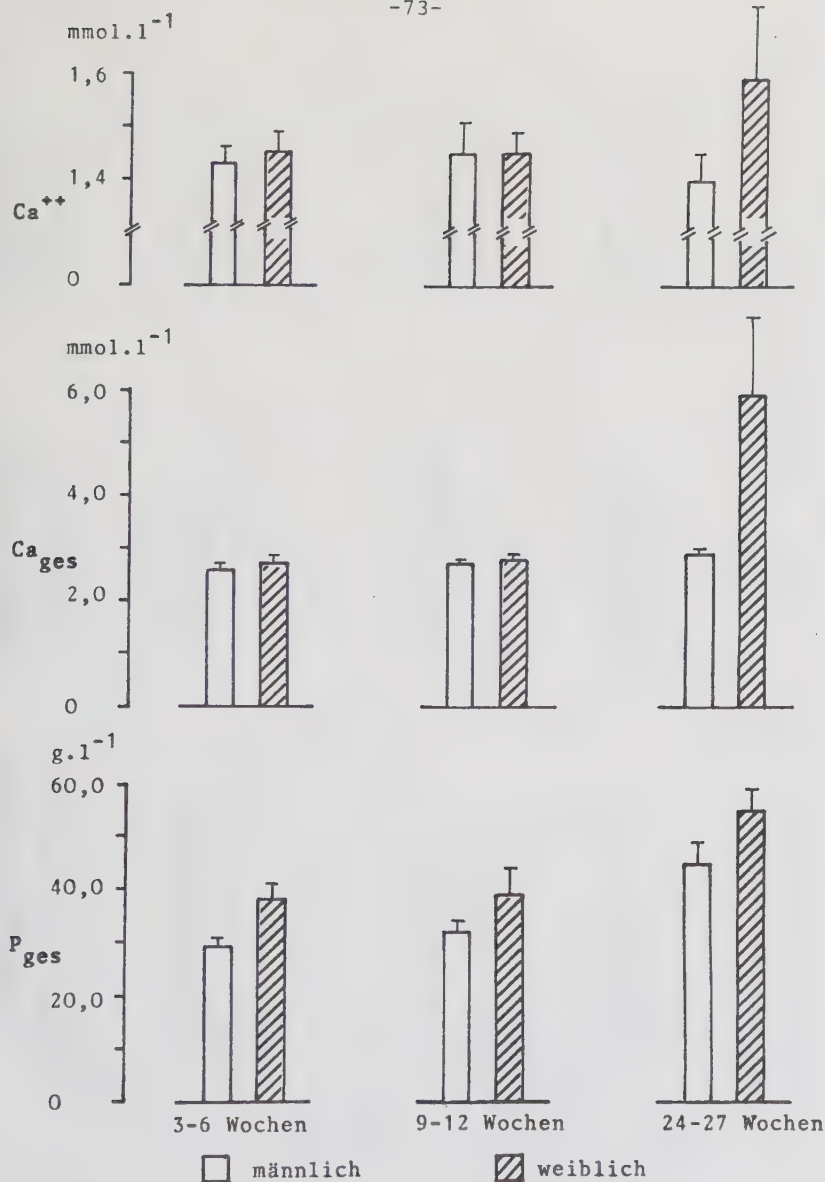


Abb. 5: Calciumionenkonzentration, Gesamtcalcium- und Gesamtprotein-
gehalt des venösen Blutes von weiblichen und männlichen
Hühnern unterschiedlichen Alters. ($n = 16$; $\bar{x} \pm s$)
Die Blutentnahme erfolgte durch Venenpunktion.

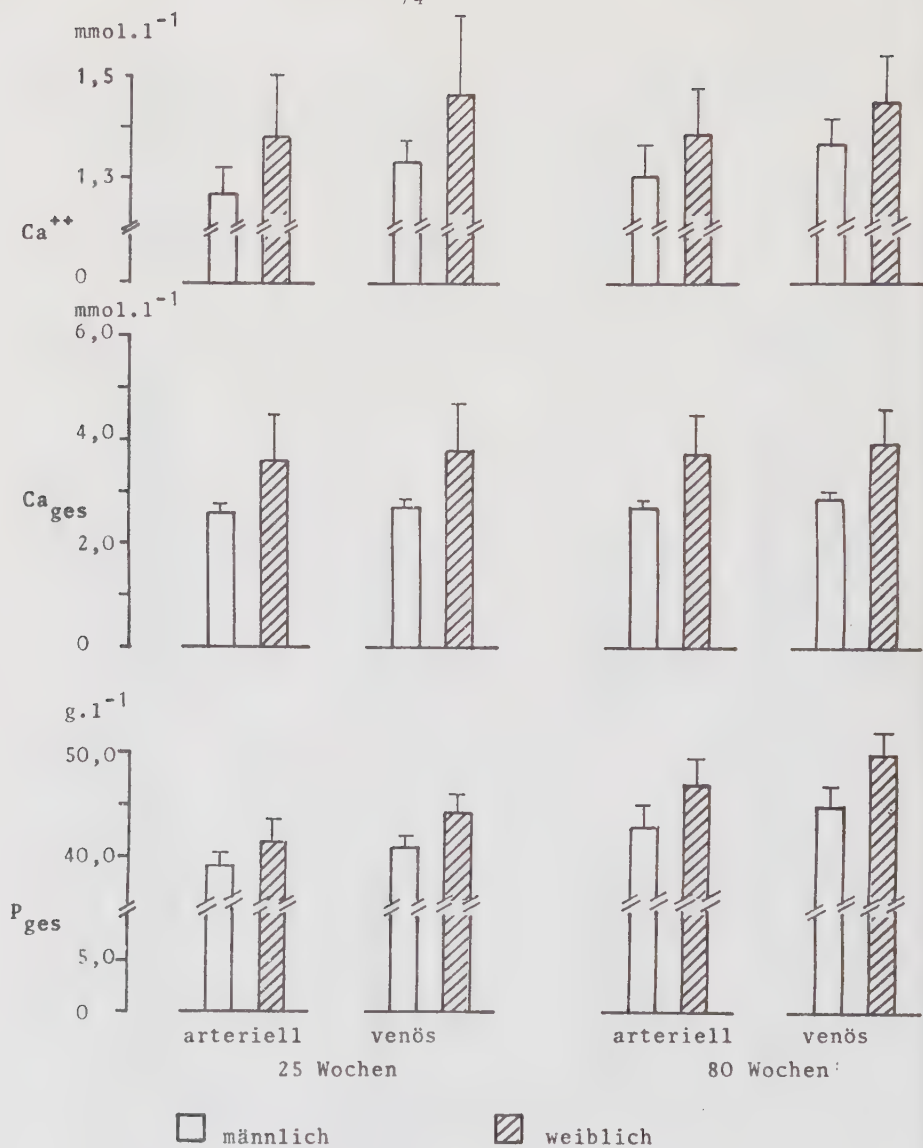


Abb. 6: Calciumionenkonzentration, Gesamtcalcium- und Gesamtprotein-
gehalt des arteriellen und venösen Blutes von 25 und 80 Woche-
alten Hennen und Hähnen. ($n = 25$; $\bar{x} \pm s$)
Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern.

arteriellen Blut von Hähnen befanden sich bei den Hennen 8,0% mehr Calciumionen im venösen und 7,4% mehr im arteriellen Blut. Der Gesamtcalciumspiegel des venösen Blutes von Hennen lag um 39,8% und der des arteriellen Blutes um 38,5% über dem der männlichen Tieren.

Die Gesamtproteinkonzentration im Plasma von Hennen war im venösen Blut um durchschnittlich 9,5% und im arteriellen um durchschnittlich 7,8% höher als bei Hähnen.

Die Wasserstoffionenkonzentration und der Kohlendioxidpartialdruck unterschieden sich zwischen männlichen und weiblichen Tieren weder im Punktionsblut noch im Katheterblut wesentlich.

Bei einem Kohlendioxidpartialdruck von durchschnittlich 37,5 mmHg betrug der pH-Wert im venösen Katheterblut 7,42 und im arteriellen 7,50 bei einem Kohlendioxidpartialdruck von durchschnittlich 27,0 mmHg.

3.2.2.4. Einfluß der Nahrungsaufnahme auf den ionisierten Calciumspiegel

Die Tabellen 19 und 20 zeigen die Ergebnisse der Untersuchung des Effektes der Nahrungsaufnahme auf die Calciumionenkonzentration, den pH-Wert und den Kohlendioxidpartialdruck im Vollblut und auf den Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt im Plasma von 25 Wochen alten Hähnen. Die Fütterung der Tiere erfolgte von 8⁰⁰-9⁰⁰ Uhr und von 14⁰⁰-15⁰⁰ Uhr. Es wurden sowohl venöses als auch arterielles Katheterblut analysiert. Der ionisierte Calciumspiegel wies 7 Stunden nach Futteraufnahme sowohl im venösen als auch im arteriellen Blut signifikant niedrigere Werte auf ($1,27 \pm 0,04$ mmol.l⁻¹ bzw. $1,19 \pm 0,03$ mmol.l⁻¹) als 1 und 4 Stunden nach Futteraufnahme (durchschnittlich $1,35$ mmol.l⁻¹ bzw. $1,27$ mmol.l⁻¹) sowie nach einer 16-stündigen Nahrungskarenz ($1,33 \pm 0,04$ mmol.l⁻¹ bzw. $1,27 \pm 0,06$ mmol.l⁻¹).

Tab. 19: Calciumionenkonzentration, pH-Wert und der Kohlendioxidpartialdruck in arteriellem und venösem Katheterblut von 25 Wochen alten Hähnen in Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme (n = 16; $\bar{x} \pm s$)

Uhrzeit		7 ⁰⁰	10 ⁰⁰	13 ⁰⁰	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰	7 ⁰⁰
Stunden nach Fütterung		16	1	4	1	7	16
Ca ⁺⁺ (mmol.l ⁻¹)	venös	1,33 ^a $\pm 0,04$	1,34 ^a $\pm 0,03$	1,35 ^a $\pm 0,03$	1,36 ^a $\pm 0,04$	1,27 ^b $\pm 0,04$	1,33 ^a $\pm 0,04$
	arteriell	1,27 ^a $\pm 0,06$	1,28 ^a $\pm 0,06$	1,25 $\pm 0,06$	1,29 ^a $\pm 0,05$	1,19 ^b $\pm 0,03$	1,27 ^a $\pm 0,06$
	venös	7,42 $\pm 0,02$	7,43 $\pm 0,02$	7,44 $\pm 0,02$	7,43 $\pm 0,02$	7,40 $\pm 0,03$	7,42 $\pm 0,02$
	arteriell	7,49 $\pm 0,03$	7,51 $\pm 0,03$	7,51 $\pm 0,03$	7,52 $\pm 0,02$	7,48 $\pm 0,03$	7,49 $\pm 0,03$
pCO ₂ (mmHg)	venös	33,9 $\pm 2,2$	34,2 $\pm 2,0$	33,6 $\pm 3,2$	35,6 $\pm 3,8$	35,5 $\pm 2,8$	33,9 $\pm 2,2$
	arteriell	24,9 $\pm 3,0$	23,8 $\pm 2,2$	23,0 $\pm 2,1$	23,9 $\pm 1,9$	24,3 $\pm 2,3$	24,9 $\pm 3,0$

a,b zwischen Zahlen mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Zeile besteht ein signifikanter Unterschied (p < 0,05)

Tab. 20: Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt in venösem und arteriellem Katheterblut von 25 Wochen alten Hähnen in Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme. (n = 9; $\bar{x} \pm s$)

Uhrzeit		7 ⁰⁰	10 ⁰⁰	13 ⁰⁰	16 ⁰⁰	7 ⁰⁰
Stunden nach Fütterung		16	1	4	1	16
Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)	venös	2,69 $\pm 0,10$	2,66 $\pm 0,09$	2,62 $\pm 0,10$	2,58 $\pm 0,16$	2,69 $\pm 0,10$
	arteriell	2,55 $\pm 0,16$	2,53 $\pm 0,09$	2,51 $\pm 0,13$	2,48 $\pm 0,17$	2,55 $\pm 0,16$
	venös	40,9 $\pm 1,6$	39,5 $\pm 2,3$	39,1 $\pm 2,4$	39,9 $\pm 2,3$	40,9 $\pm 1,6$
	arteriell	39,1 $\pm 2,9$	37,7 $\pm 2,6$	37,2 $\pm 2,3$	37,5 $\pm 1,6$	39,1 $\pm 2,9$

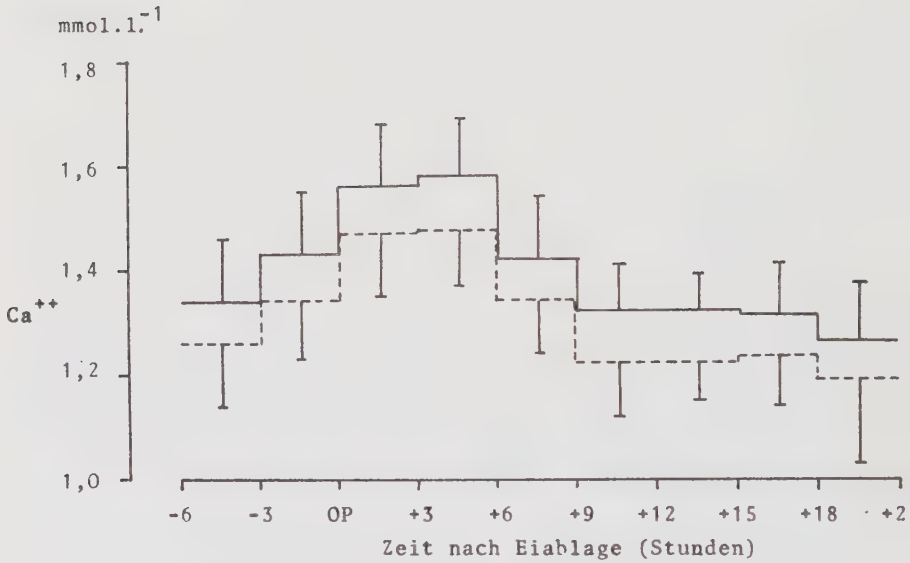
Wegen des großen Blutverlustes zur Plasmagewinnung konnte der Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt des Blutes nur viermal pro Tag bestimmt werden. Es stellte sich dabei heraus, daß die Nahrungsaufnahme keinen eindeutigen Effekt auf diese Blutparameter hatte. Die Gesamtcalciumkonzentration des Plasmas von nüchternen Tieren (16 Stunden Futterentzug) betrug $2,69 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw. $2,55 \pm 0,16 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut und die Gesamtproteinkonzentration $40,9 \pm 1,6 \text{ g.l}^{-1}$ bzw. $39,1 \pm 2,9 \text{ g.l}^{-1}$. Diese Werte waren geringfügig höher als die entsprechenden Werte 1-4 Stunden nach Fütterung (Gesamtcalciumkonzentration: durchschnittlich $2,62 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw. $2,51 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut; Gesamtproteinkonzentration: durchschnittlich $39,5 \text{ g.l}^{-1}$ bzw. $37,5 \text{ g.l}^{-1}$).

Der Säure-Basen- und Blutgasstatus der Hähne wurden durch die Nahrungsaufnahme nicht beeinflusst. Der pH-Wert des venösen Blutes betrug durchschnittlich 7,42 und der des arteriellen 7,50. Der Kohlendioxidpartialdruck belief sich auf durchschnittlich 34,6 mmHg bzw. 24,0 mmHg entsprechend.

3.2.2.5. Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom Legezyklus

Die Abbildungen 7 und 8 zeigen das Verhalten des ionisierten Calciumspiegels und des Gesamtcalciumspiegels im arteriellen und venösen Blut von adulten Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus. Die Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Eiablagen betrug durchschnittlich 27 Stunden.

Die Calciumionenkonzentration schwankte sowohl im arteriellen als auch im venösen Blut während eines Legezyklus in einer charakteristischen Weise, die dem Verlauf einer Sinuskurve ähnlich sah. Unmittelbar nach Eiablage stieg der ionisierte Calciumspiegel signifikant an und erreichte nach 3-6 Stunden ein Maximum von $1,58 \pm 0,11 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw.



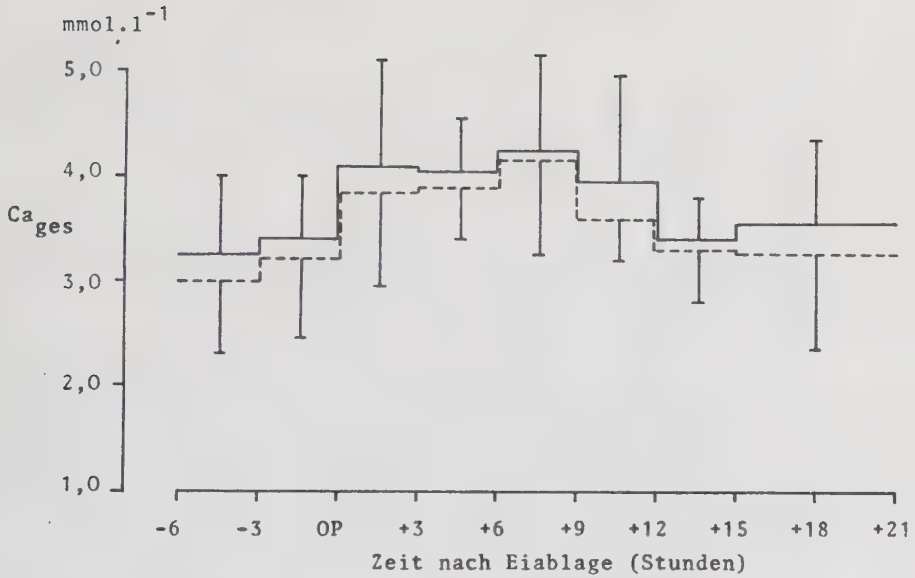
OP Oviposition

——— venöses Katheterblut

----- arterielles Katheterblut

Abb. 7: Calciumionenkonzentration des venösen und des arteriellen Blutes von adulten Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus.

(n = 10-21; $\bar{x} \pm s$)



OP Oviposition

— venöses Katheterblut

---- arterielles Katheterblut

Abb. 8: Gesamtcalciumkonzentration des venösen und des arteriellen Blutes von adulten Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus.
(n = 5-8; $\bar{x} \pm s$)

$1,48 \pm 0,11 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut. Innerhalb der nächsten 3 Stunden fiel er sprunghaft ab, um dann von der 9. bis zur 21. Stunde nach Eiablage auf einem relativ niedrigen Niveau zu verharren. Zwischen der 18. und 21. Stunde nach Eiablage war die Calciumionenkonzentration am niedrigsten ($1,26 \pm 0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw. $1,19 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut). Anschließend stieg sie wieder an, zuerst langsam und nach der Eiablage schneller. Die arterio-venöse Differenz betrug relativ konstant $-0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$.

Der Gesamtcalciumspiegel des Plasmas verhielt sich ähnlich, wie der des ionisierten Calciums, nur waren seine Veränderungen wegen der breiten Streuung der Ausgangswerte statistisch nicht signifikant. Sein Minimum lag bei $3,25 \pm 0,74 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw. $2,99 \pm 0,68 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut und zwar 21-24 Stunden nach Eiablage. Die Konzentration des Gesamtcalciums stieg sofort nach Eiablage an, erreichte ihr Maximum ($4,24 \pm 0,87 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw. $4,15 \pm 0,91 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut) aber erst 3 Stunden später als die des ionisierte Calciums.

Zur Zeit der Eischalenbildung (ca.6-21 Stunden nach Eiablage) betrug der Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium 35,3% im Vergleich zu 40,1%, wenn keine Mineralisation stattfand.

Die Tabellen 21 und 22 fassen die Ergebnisse der Messungen der Wasserstoffionen- und Bicarbonatkonzentration und des Kohlendioxidpartialdruckes im Vollblut sowie des Gesamtproteingehaltes im Plasma in Abhängigkeit vom Legezyklus zusammen.

Im Laufe eines Legezyklus veränderten sich weder der pH-Wert des venösen Blutes (durchschnittlich 7,43) noch der pH-Wert des arteriellen Blutes (durchschnittlich 7,51) signifikant. Der Kohlendioxidpartialdruck stieg von $33,8 \pm 5,8 \text{ mmHg}$ im venösen bzw. $25,0 \pm 4,4 \text{ mmHg}$ im arteriellen Blut (0-3 Stunden nach

Tab. 21: Gesamtcalcium und Gesamtproteinkonzentration im arteriellen und venösen Blut von adulten Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus. Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern. ($\bar{x} \pm s$)

Zeit nach Eiablage (Stunden)	Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)		P _{Ges} (g.l ⁻¹)		n
	venös	arteriell	venös	arteriell	
0- 3	4,08 $\pm$ 1,06	3,83 $\pm$ 0,90	44,6 $\pm$ 7,8	42,4 $\pm$ 6,6	7
3- 6	4,05 $\pm$ 0,53	3,90 $\pm$ 0,49	45,7 $\pm$ 6,1	44,3 $\pm$ 4,8	7
6- 9	4,24 $\pm$ 0,87	4,15 $\pm$ 0,91	42,7 $\pm$ 3,0	42,5 $\pm$ 4,4	4
9-12	3,96 $\pm$ 1,02	3,60 $\pm$ 0,39	46,6 $\pm$ 9,7	44,0 $\pm$ 6,5	5
12-15	3,41 $\pm$ 0,41	3,28 $\pm$ 0,47	44,4 $\pm$ 4,7	42,1 $\pm$ 4,8	5
15-21	3,58 $\pm$ 0,91	3,26 $\pm$ 0,92	44,0 $\pm$ 5,1	40,6 $\pm$ 5,5	6
21-24	3,25 $\pm$ 0,74	2,99 $\pm$ 0,68	41,6 $\pm$ 4,3	38,7 $\pm$ 4,5	8
24-27	3,41 $\pm$ 0,59	3,22 $\pm$ 0,58	46,9 $\pm$ 6,8	45,6 $\pm$ 5,3	6
$\bar{x}$	3,75	3,53	44,5	42,6	

Eiablage) auf maximal 39,8 $\pm$ 4,5 mmHg bzw. 28,1 $\pm$ 3,2 mmHg an (12-15 Stunden nach Eiablage). Parallel dazu erhöhte sich auch die Bicarbonatkonzentration des arteriellen und venösen Blutes um durchschnittlich 2,3 mmol.l⁻¹. Sie erreichte ein Maximum von 23,8 $\pm$ 3,0 mmol.l⁻¹ im venösen und von 20,0 $\pm$ 2,9 mmol.l⁻¹ im arteriellen Blut.

Tab. 22: Kohlendioxidpartialdruck, pH und Bicarbonatkonzentration im arteriellen und venösen Blut von adulten Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus. Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern. (n = 10-21; $\bar{x} \pm s$)

Zeit nach Eiablage (Stunden)	pH		pCO ₂ (mmHg)		HCO ₃ ⁻ (mmol.l ⁻¹)	
	venös	arteriell	venös	arteriell	venös	arteriell
0- 3	7,44 $\pm 0,05$	7,52 $\pm 0,05$	33,8 ^a $\pm 5,8$	25,0 ^a $\pm 4,4$	21,4 ^a $\pm 2,4$	18,6 ^a $\pm 2,4$
3- 6	7,44 $\pm 0,04$	7,51 $\pm 0,02$	38,7 $\pm 6,2$	27,9 $\pm 4,6$	23,1 $\pm 2,2$	19,9 $\pm 2,2$
6- 9	7,42 $\pm 0,05$	7,50 $\pm 0,04$	39,2 $\pm 4,6$	27,8 $\pm 4,2$	23,0 $\pm 2,0$	20,0 $\pm 2,2$
9-12	7,42 $\pm 0,05$	7,50 $\pm 0,05$	39,8 ^b $\pm 4,8$	27,9 $\pm 4,3$	22,8 $\pm 2,0$	19,7 $\pm 2,4$
12-15	7,42 $\pm 0,05$	7,51 $\pm 0,04$	39,8 ^b $\pm 4,5$	28,1 ^b $\pm 3,2$	23,5 $\pm 1,5$	20,9 ^b $\pm 1,6$
15-18	7,44 $\pm 0,04$	7,51 $\pm 0,04$	36,2 $\pm 3,2$	27,0 $\pm 2,5$	23,8 ^b $\pm 3,0$	20,9 ^b $\pm 2,9$
18-21	7,43 $\pm 0,05$	7,50 $\pm 0,04$	36,3 $\pm 6,2$	26,7 $\pm 4,9$	22,2 $\pm 3,2$	18,8 $\pm 2,7$
21-24	7,41 $\pm 0,04$	7,49 $\pm 0,05$	36,0 $\pm 4,6$	26,5 $\pm 5,1$	21,0 ^a $\pm 1,9$	18,2 ^a $\pm 1,8$
24-27	7,43 $\pm 0,04$	7,51 $\pm 0,05$	35,6 $\pm 5,4$	25,5 $\pm 4,3$	21,3 ^a $\pm 2,4$	18,7 $\pm 2,2$
$\bar{x}$	7,43	7,51	37,3	26,9	22,5	19,5

a, b zwischen Zahlen mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte besteht ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$)

3.2.2.6. Auswirkungen der Tageszeit auf den ionisierten Calciumspiegel

Bei den weiblichen Tieren wurde wegen des hohen Blutverlustes zur Plasmagewinnung nur die Calciumionenkonzentration, der pH-Wert und der Kohlendioxidpartialdruck des arteriellen und venösen Blutes in Abhängigkeit von der Tageszeit bestimmt.

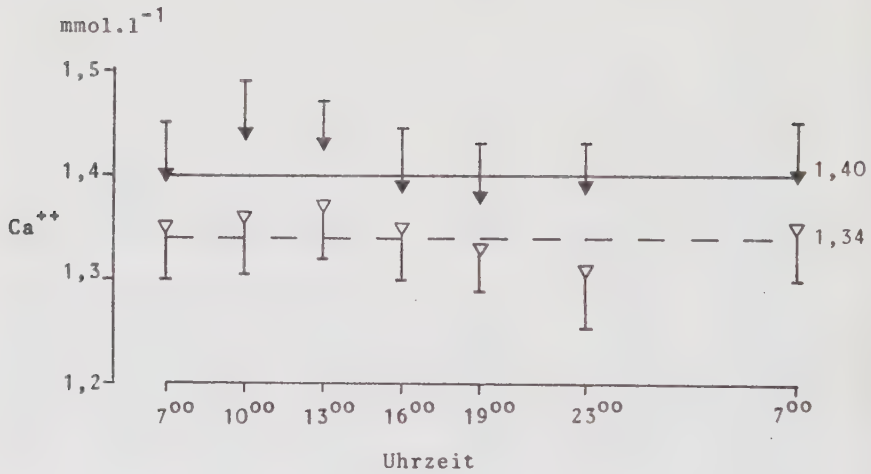
Aus Tabelle 23 ist zu ersehen, daß sich bei den Hennen weder die Wasserstoffionenkonzentration noch der Kohlendioxidpartialdruck im Vollblut innerhalb von 24 Stunden signifikant veränderten. Der pH-Wert des venösen Blutes betrug bei einem pCO_2 von durchschnittlich 40,9 mmHg 7,40 und der pH-Wert des arteriellen Blutes bei einem pCO_2 von durchschnittlich 30,9 mmHg 7,47.

Abbildung 9 zeigt die Schwankungen des ionisierten Calciumspiegels im Laufe eines Tages. Von seinem Maximum im venösen Blut um 10⁰⁰ Uhr ($1,44 \pm 0,04 \text{ mmol.l}^{-1}$) fiel er auf ein Minimum von $1,38 \pm 0,06 \text{ mmol.l}^{-1}$ um 19⁰⁰ Uhr ab. Im arteriellen Blut trat sowohl das Maximum ($1,37 \pm 0,06 \text{ mmol.l}^{-1}$) als auch das Minimum ($1,31 \pm 0,05$) drei Stunden später auf.

Bei den Hähnen wurden neben den oben genannten Blutparametern auch der Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt des Plasmas bestimmt. Es konnten außer für die Calciumionenkonzentration keine signifikanten tageszeitabhängigen Veränderungen festgestellt werden (siehe Tabelle 24 und 25).

Der Kohlendioxidpartialdruck des venösen Blutes lag mit durchschnittlich 41,4 mg um 11,9 mmHg über dem des arteriellen Blutes und der pH-Wert betrug durchschnittlich 7,41 im venösen bzw. 7,49 im arteriellen Blut. Das venöse Blut enthielt durchschnittlich $2,85 \text{ mmol.l}^{-1}$ Gesamtcalcium und $43,5 \text{ g.l}^{-1}$ Gesamtprotein, das arterielle nur $2,72 \text{ mmol.l}^{-1}$ bzw. $40,7 \text{ g.l}^{-1}$.

Die Calciumionenkonzentration zeigte einen circadianen Rhythmus (siehe Abb. 10), der dem der Hennen ähnlich war.



▼ venöses Blut; — — — Durchschnittswert von 24 Stunden
 ▽ arterielles Blut; — — — Durchschnittswert von 24 Stunden

Abb. 9: Calciumionenkonzentration im venösen und arteriellen Blut von adulten, nicht legenden Hennen in Abhängigkeit von der Tageszeit.

Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern.

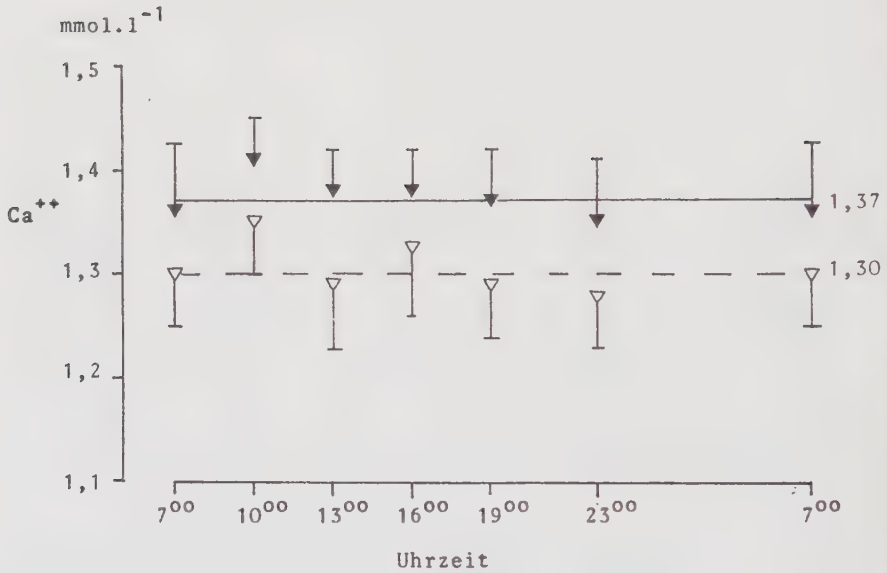
(n = 7-10; $\bar{x} \pm s$)

Tab. 23: pH-Wert und Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen und venösen Blut von adulten, nicht legenden Hennen in Abhängigkeit von der Tageszeit. Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern. (n = 7-11; $\bar{x} \pm s$)

Uhrzeit	pH		pCO ₂ (mmHg)	
	venös	arteriell	venös	arteriell
7 ⁰⁰	7,43 $\pm$ 0,03	7,48 $\pm$ 0,06	40,0 $\pm$ 3,6	30,4 $\pm$ 4,9
10 ⁰⁰	7,39 $\pm$ 0,04	7,45 $\pm$ 0,04	40,3 $\pm$ 2,9	32,0 $\pm$ 4,0
13 ⁰⁰	7,38 $\pm$ 0,05	7,47 $\pm$ 0,03	41,1 $\pm$ 5,6	29,1 $\pm$ 4,0
16 ⁰⁰	7,40 $\pm$ 0,03	7,47 $\pm$ 0,02	40,5 $\pm$ 2,4	31,6 $\pm$ 3,8
19 ⁰⁰	7,38 $\pm$ 0,05	7,46 $\pm$ 0,04	42,2 $\pm$ 5,3	30,1 $\pm$ 3,0
23 ⁰⁰	7,39 $\pm$ 0,05	7,46 $\pm$ 0,03	41,6 $\pm$ 5,4	32,1 $\pm$ 4,3
$\bar{x}$	7,40	7,47	40,9	30,9

Tab. 24: pH-Wert und Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen und venösen Blut von 80 Wochen alten Hähnen in Abhängigkeit von der Tageszeit. Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern. (n = 7-11; $\bar{x} \pm s$)

Uhrzeit	pH		pCO ₂ (mmHg)	
	venös	arteriell	venös	arteriell
7 ⁰⁰	7,43 $\pm$ 0,03	7,49 $\pm$ 0,02	40,4 $\pm$ 2,4	29,8 $\pm$ 3,5
10 ⁰⁰	7,42 $\pm$ 0,05	7,50 $\pm$ 0,01	41,4 $\pm$ 5,0	29,5 $\pm$ 1,8
13 ⁰⁰	7,41 $\pm$ 0,04	7,49 $\pm$ 0,02	41,0 $\pm$ 5,2	29,1 $\pm$ 4,0
16 ⁰⁰	7,41 $\pm$ 0,04	7,50 $\pm$ 0,02	40,8 $\pm$ 5,9	30,0 $\pm$ 3,5
19 ⁰⁰	7,38 $\pm$ 0,04	7,48 $\pm$ 0,04	42,7 $\pm$ 6,0	29,0 $\pm$ 3,5
23 ⁰⁰	7,39 $\pm$ 0,04	7,49 $\pm$ 0,03	42,4 $\pm$ 2,9	29,4 $\pm$ 2,9
$\bar{x}$	7,41	7,49	41,4	29,5



▼ venöses Blut; ——— Durchschnittswert von 24 Stunden
 ∇ arterielles Blut; - - - Durchschnittswert von 24 Stunden

Abb. 10: Calciumionenkonzentration im venösen und arteriellen Blut von adulten Hähnen in Abhängigkeit von der Tageszeit.
 Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern.
 (n = 7-10; $\bar{x} \pm s$)

Tab. 25: Gesamtcalcium- und Gesamtproteinkonzentration im arteriellen und venösen Blut von 80 Wochen alten Hähnen in Abhängigkeit von der Tageszeit. Die Blutentnahme erfolgte aus Kathetern. (n = 8; $\bar{x} \pm s$)

Uhrzeit	Ca _{Ges} (mmol.l ⁻¹)		pGes (g.l ⁻¹)	
	venös	arteriell	venös	arteriell
7 ⁰⁰	2,86 $\pm$ 0,08	2,73 $\pm$ 0,13	43,8 $\pm$ 5,6	41,3 $\pm$ 4,5
10 ⁰⁰	2,86 $\pm$ 0,15	2,73 $\pm$ 0,13	43,3 $\pm$ 4,1	39,8 $\pm$ 3,4
16 ⁰⁰	2,84 $\pm$ 0,10	2,71 $\pm$ 0,19	43,4 $\pm$ 4,4	41,1 $\pm$ 5,2
$\bar{x}$	2,85	2,72	43,5	40,7

Maximale Konzentrationen herrschten um 10⁰⁰ Uhr sowohl im venösen (1,41 $\pm$ 0,06 mmol.l⁻¹) als auch im arteriellen Blut (1,35 $\pm$ 0,05 mmol.l⁻¹). Anschließend fiel der ionisierte Calciumspiegel um durchschnittlich 0,08 mmol.l⁻¹ auf ein Minimum von 1,35 $\pm$ 0,05 mmol.l⁻¹ bzw. 1,28 $\pm$ 0,05 mmol.l⁻¹ um 23⁰⁰ Uhr ab.

4. DISKUSSION

Da beim Huhn aufgrund der Rhythmik des Legezyklus der Calciumspiegel des Blutes anders als bei Säugetieren starken Schwankungen unterliegt, weckt die Calciumhomöostase besonderes wissenschaftliches Interesse.

Über den Gesamtcalciumspiegel des venösen Blutes des Haushuhns gibt es in der Literatur bereits zahlreiche Untersuchungen. Die Frage, inwieweit zwischen dem Gesamtcalciumgehalt des Blutes und der Calciumionenkonzentration eine Korrelation besteht, konnte in den bisher vorliegenden Studien noch nicht geklärt werden. Da eine brauchbare Methode zur Bestimmung des ionisierten Calciums erst mit der Einführung der ionenselektiven Elektroden entwickelt wurde, liegen für das Huhn nur vereinzelt Arbeiten über die Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration im venösen Blut von verschiedenen methodischen und physiologischen Faktoren vor und es gibt keine Hinweise hinsichtlich des Verhaltens des ionisierten Calciums im arteriellen im Vergleich zum venösen Blut.

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl die Auswirkungen der Blutentnahmetechnik, der Lagerung und Kohlendioxidbegasung von Blutproben als auch der Einfluß des Alters der Tiere, des Geschlechts, der Nahrungsaufnahme, des Legezyklus und der Tageszeit auf die Calciumionenkonzentration im arteriellen und venösen Blut des Haushuhns in Abhängigkeit vom Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt sowie vom Säure-Basen- und Blutgas-Status ermittelt.

Soweit nicht besonders vermerkt, sind in der Diskussion ausschließlich Ergebnisse anderer Autoren am Huhn einbezogen.

1. Blutentnahmetechnik

Für die Gewinnung einzelner Blutproben wendeten wir die Venenpunktion, für Serien-Blutentnahmen aus dem arteriellen und venösen System des Kreislaufes die Gefäßkatheterisierung an.

Die Gefäßpunktion wurde der Herzpunktion vorgezogen, da erstere die Hühner weniger belastet (BUCKLAND et al., 1974; FREEMAN and MANNING, 1976; SALEH and JAKSCH, 1977; ESKLAND and BLOM, 1979; JOHNSON, 1981). Die Punktion der V.jugularis dextra eignete sich besonders zur Gewinnung größerer Blutmengen (ab 5ml) von ausgewachsenen Hühnern und zur Blutentnahme beim Küken. Da die rechte V.jugularis beim Huhn stärker ausgebildet ist als die linke, kollabiert sie seltener und die Blutentnahme kann zügiger durchgeführt werden. Wegen der Neigung zur Hämatombildung bei der Punktion der V.cutanea ulnaris wurde dieses Gefäß nur zur einmaligen Gewinnung kleiner Blutmengen herangezogen.

Für Verlaufsuntersuchungen über mehrere Tage und für die gleichzeitige Gewinnung von arteriellem und venösem Blut wurden Gefäßverweilkatheter gelegt. Ein großer Vorteil der Katheterisierung besteht darin, daß der Blutentnahmestreß, welcher sehr viele hämatologische und physiologische Parameter verändert (WHITTOW et al., 1965; FREEMAN and MANNING, 1976; BEUVING and VONDER, 1978; ESKLAND and BLOM, 1979; FREEMAN and FLACK, 1980; HARVEY et al., 1984; RADKE et al., 1985), entfällt.

Aus Vorversuchen ergab sich, daß von den in der Literatur aufgeführten Möglichkeiten (V.cutanea ulnaris: HAMILTON, 1977; NIGHTINGALE, 1977; JOHNSON, 1981; PARSONS and COMBS, 1981; V.jugularis dextra: SIEGEL and LATIMER, 1980; LATIMER et al., 1981; McMURTRY and BROCHT, 1984; A.carotis communis: WHITTOW et al., 1965; DARRE et al., 1980; HARRISON et al., 1982; A.femoralis: MARDER et al., 1974; NIGHTINGALE, 1977; A.brachialis oder A.ulnaris: CHIODI and Terman, 1965; PHILIPS et al., 1971; GRANT and PARKES, 1974; KILEY et al., 1980) die Katheterisierung der V.jugularis dextra und der A.ulnaris am vorteilhaftesten waren. Beide Gefäße sind durch die Haut sichtbar, daher leicht zugänglich und ohne bedeutende Traumatisierung des umliegenden Gewebes zu katheterisieren. Außerdem konnten sich die Hühner mit beiden

Kathetern frei im Käfig bewegen und ungehindert Futter und Wasser aufnehmen.

Die Katheterisierung der A. ulnaris nur unter Lokalanästhesie (PHILIPS et al., 1971; KILEY et al., 1980) erwies sich als ungeeignet, da die Hühner während der Operation trotz Fixation unruhig waren und die Arterie durch die Infiltration des umliegenden Gewebes mit dem Lokalanästhetikum nicht gut dargestellt werden konnte. Aus diesem Grunde und da für die Katheterisierung der V. jugularis dextra auf jeden Fall eine Allgemeinanästhesie erforderlich ist, führten wir den chirurgischen Eingriff unter Vollnarkose durch.

Im Gegensatz zu Ketanest^R (20-30 mg/kg KG) führte Hypnodil^R (10-20 mg/kg KG) zu einem wesentlich ruhigeren Schlaf und die narkotische Breite war ebenfalls größer. 8 Hennen legten noch während der Operation sowohl unter Ketanest^R- als auch unter Hypnodil^R- Einfluß ein legereifes Ei. Unter Ketanest^R-Wirkung wurde in 3 Fällen der Abgang eines Windeies ca. eine Stunde nach Beendigung der Operation beobachtet. Es konnte nicht geklärt werden, ob dies der Anästhesie im allgemeinen, der Wahl des Narkosemittels oder seiner Dosierung zuzuschreiben war.

Der Verschluss der Katheter mit Aufdrehstöpseln mit Gummieinlage zum Durchstechen bringt gegenüber den in der Literatur beschriebenen Schlauchsystemen (LATIMER et al., 1981; McMURTRY and BROCHT, 1984), die aus dem Käfig herausgeführt werden und die Blutentnahme von außen ermöglichen, mehrere Vorteile. Da der technische Aufwand wesentlich geringer und vor allem das Totraumvolumen der Katheter bedeutend kleiner ist, wird die Gefahr einer Systemverstopfung vermindert und zur Aufrechterhaltung der Durchgängigkeit der Katheter wird wesentlich weniger Heparin benötigt.

Im Laufe unserer Versuche stellte sich heraus, daß die Hennen ihre Legetätigkeit einstellten, wenn der Blutverlust durch die zahlreichen Blutentnahmen an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen zu groß war.

2. Bestimmung des ionisierten Calciums

Die Probengewinnung zur Bestimmung des ionisierten Calciums muß unter anaeroben Bedingungen erfolgen, um CO_2 -Verluste, die eine pH-Verschiebung in der Blutprobe zur Folge haben, zu vermeiden (WYBENGA et al., 1976; BISWAS et al., 1982). Dazu wurde der Totraum der Spritzen mit dem Antikoagulans gefüllt und die Spritze nach möglichst luftbläschenfreier Blutentnahme sofort mit einem Stöpsel verschlossen.

Als Antikoagulans wurde bei der Blutentnahme ausschließlich CaCl_2 -substituierte Heparinlösung in einer Konzentration von 20-50 I.E. pro ml Blut verwendet, da es sich bereits in anderen Studien gezeigt hat, daß herkömmliche Substanzen wie Citrat und EDTA mit Calciumionen Komplexe bilden (LUCK and SCANES, 1979a; McMURTRY et al., 1984) und daß auch Heparin zu einer konzentrationsabhängigen Verminderung des ionisierten Calciumspiegels führt (McMURTRY et al., 1984; KÖLLING, 1984).

Die Bestimmung des ionisierten Calciums erfolgte mit Hilfe des ICA 1 (Firma Radiometer, Kopenhagen, Dänemark), eines computergesteuerten Meßsystems mit integrierten ionenselektiven Elektroden. Dieser Analysator hatte sich in früheren Untersuchungen als besonders präzise und zuverlässig erwiesen. Außerdem wird im Vergleich zu anderen Analysatoren nur ein relativ geringes Probenvolumen benötigt (KÖLLING, 1984).

3. Einfluß methodischer Faktoren

Die vorliegende Arbeit befaßt sich unter anderem mit der Frage inwieweit die Blutentnahmetechnik (Gefäßpunktion oder -katheterisierung) und die Lagerung von Blutproben des Haushuhns den ionisierten Calciumspiegel in Abhängigkeit vom Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt, sowie vom pH-Wert und vom Kohlendioxidpartialdruck beeinflussen.

- Einfluß der Blutentnahmetechnik

Die Blutentnahmetechnik spielt eine äußerst wichtige Rolle bei der Bestimmung zahlreicher klinisch-chemischer und hämatologischer Parameter (FRIEDEL et al., 1975; ESKLAND and BLOM, 1979; JOHNSON, 1981).

Um das Ausmaß der Veränderungen der Calcium- und Wasserstoffionenkonzentration, des Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehaltes sowie des Kohlendioxidpartialdruckes in Abhängigkeit von der Blutentnahmetechnik herauszufinden wurde bei adulten Hähnen venöses Punktionsblut mit venösem Katheterblut verglichen. Alle oben genannten Parameter waren im Punktionsblut höher als im Katheterblut, unabhängig von der Reihenfolge der Blutentnahme.

Hinweise über das Zustandekommen dieser Veränderungen gibt es in der Literatur für das Haushuhn nur wenige, weshalb auch Untersuchungen beim Menschen und bei Säugetieren zum Vergleich heranzuziehen sind.

Für die Abweichungen der Resultate des Punktionsblutes von denen des Katheterblutes scheinen u.a. die Venostase und der Blutentnahmestreß verantwortlich zu sein.

Der Effekt der Venostase wurde beim Menschen eingehend untersucht (HUSDAN et al., 1974; KÖLLING, 1984). Sie führt zu einem Anstieg der Wasserstoff- und Calciumionenkonzentration und des Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehaltes, wobei das Ausmaß der Veränderungen von der Dauer und der Druckhöhe der Venostase sowie vom Funktionszustand (Relaxation oder aktive Bewegung) der gestauten Extremität abhängt (KÖLLING, 1984). Die meisten der festgestellten Veränderungen während der Venostase können auf eine Hämokonzentration, bedingt durch einen Venendruckanstieg, und auf hämodynamische Veränderungen zurückgeführt werden.

Sowohl die Fixation als auch die Manipulation bei der Venenpunktion stellen für Hühner einen Streßfaktor dar, der zu hämatologischen und chemischen Blutveränderungen führt.

GOHARY (1978) führte den beim Schaf beobachteten Anstieg des

Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehaltes des Plasmas ebenfalls auf eine Hämokonzentration infolge des Blutentnahmestresses bei der Punktion der V.jugularis zurück. Den pH-Wert-Anstieg interpretierte GOHARY (1978) als Folge eines sprunghaften Anstiegs des Plasmalactatspiegels bedingt durch den anaeroben Muskelstoffwechsel in einer Stresssituation. Ähnliche Vermutungen äußerten auch GÄRTNER et al. (1980) bei ihren Untersuchungen an Ratten.

Aus den von uns beim Huhn und von anderen Autoren bei unterschiedlichen Species (FRIEDEL et al., 1975; MORGAN and UPTON, 1975; GOHARY, 1978; HARVEY et al., 1984; RADKE et al., 1985) erhaltenen Ergebnissen wird ersichtlich, daß die Blutentnahmetechnik bei einem Vergleich verschiedener Ergebnisse unbedingt zu berücksichtigen ist.

- Einfluß der Lagerung von Blutproben

Da bei Verlaufsuntersuchungen, bei denen zahlreiche Blutproben von mehreren Tieren an einem Tag entnommen werden, nicht immer die Möglichkeit besteht alle Proben sofort zu analysieren, versuchten wir zu klären in welchem Maße sich die Calciumionenkonzentration in Vollblutproben und die Gesamtcalciumkonzentration in Plasmaproben beim Haushuhn während der Lagerung verändern.

Bei kühler Lagerung (4°C) von heparinisierten Vollblutproben in verschlossenen Plastikspritzen veränderten sich weder die Calciumionenkonzentration, noch der pH-Wert und der Kohlendioxidpartialdruck der Proben nach 24 Stunden signifikant. Diese Ergebnisse bestätigen die Untersuchungen von LUCK und SCANES (1979a) und SCHEIBENHOFFER (1984).

Bei Raumtemperatur (21°C) dagegen kam es zu einem signifikanten Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes bereits nach 4 Stunden und der Wasserstoffionenkonzentration nach 8 Stunden. Da die Calciumionenkonzentration u.a. auch vom pH-Wert des Blutes abhängt, erhöhte sie sich nach 24 Stunden ebenfalls

signifikant, wobei einem pH-Wert-Abfall von 0,1 Einheiten ein Anstieg der Konzentration des ionisierten Calciums um $0,035 \text{ mmol.l}^{-1}$ entsprach.

Auch NIGHTINGALE et al. (1975) beobachteten einen Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes und der Wasserstoffionenkonzentration bei der Lagerung von Vollblutproben in verschlossenen Plastikspritzen bei einer Umgebungstemperatur von $24-27^{\circ}\text{C}$.

Im Widerspruch dazu fiel bei den Versuchen von TAYLOR und HERTELENDY (1961) die Wasserstoffionenkonzentration von Vollblutproben nach 3-stündiger Lagerung bei Raumtemperatur und damit auch die diffusible Calciumfraktion des Plasmas ab. Dies kam wohl dadurch zustande, daß die Proben offen gelagert wurden, Kohlendioxid entweichen konnte und deshalb der pH-Wert anstieg.

Folglich sollten Vollblutproben zur Bestimmung der Calcium- und Wasserstoffionenkonzentration und der Blutgase bei 4°C und unter möglichst luftdichtem Verschuß aufbewahrt werden.

Der bei 7-tägiger Lagerung von Plasmaproben bei -18°C von uns beobachtete Abfall der Gesamtcalcium- und Gesamtprotein-konzentration um ca. 5,0% ist möglicherweise auf den nie ganz vermeidbaren Entmischungseffekt der Proben und die dadurch bedingten Fehler bei der Analyse zurückzuführen. Diese Veränderungen waren jedoch nur in jeweils 2 von 4 Untersuchungsreihen statistisch signifikant.

Bei den Untersuchungen von McMURTRY et al. (1984) veränderte sich der Gesamtcalciumgehalt von tiefgefroren gelagerten Plasmaproben nicht. Dies könnte möglicherweise auf der unterschiedlichen Calciumbestimmungsmethode (AAS) und der kürzeren Lagerungsdauer (24 Stunden) sowie auf der Verwendung einer anderen Tierart (Truthuhn) beruhen.

4. Einfluß physiologischer Faktoren

Neben methodischen Faktoren beeinflussen eine Reihe physiologischer Faktoren wie z.B. das Alter der Hühner, das Geschlecht, die Nahrungsaufnahme, der Legezyklus und die Tageszeit den Calciumspiegel des Blutes. Weiterhin ist bei der Calciumbestimmung von entscheidender Bedeutung ob arterielles oder venöses Blut analysiert wird.

- Die Calciumkonzentration im arteriellen und venösen Blut

In der Literatur gibt es für das Haushuhn keine Angaben über das Verhalten des ionisierten Calciums in den verschiedenen Kreislaufregionen und auch nur sehr wenige bezüglich des Gesamtcalciums. Der Grund dafür liegt möglicherweise in den methodischen Schwierigkeiten arterielles und venöses Blut von Hühnern unter annähernd physiologischen Bedingungen über einen längeren Zeitraum zu entnehmen.

In den von uns durchgeführten Versuchen lagen bei adulten Hähnen im venösen Blut bei einer Gesamtcalciumkonzentration von durchschnittlich $2,74 \text{ mmol.l}^{-1}$ und einer Calciumionenkonzentration von durchschnittlich $1,35 \text{ mmol.l}^{-1}$ 49,3% des Calciums in ionisierter Form vor. Im arteriellen Blut wurde ein um durchschnittlich $0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$ niedrigerer Gesamtcalciumgehalt sowie ein um $0,07 \text{ mmol.l}^{-1}$ niedrigerer ionisierter Calciumspiegel gemessen. Der Ionisationsgrad belief sich auf 48,9%. Die Gesamtproteinkonzentration des venösen Blutes betrug durchschnittlich $42,4 \text{ g.l}^{-1}$, $2,6 \text{ mmol.l}^{-1}$ mehr als die des arteriellen Blutes. Der pH-Wert des arteriellen Blutes lag mit durchschnittlich 7,49 um 0,07 Einheiten über und der Kohlendioxidpartialdruck mit durchschnittlich 26,7 mmHg um 11,7 mmHg unter dem des venösen Blutes.

Bei den adulten Hennen enthielt das venöse Blut durchschnittlich $1,44 \text{ mmol.l}^{-1}$ Calciumionen bei einem Gesamtcalciumgehalt von $3,82 \text{ mmol.l}^{-1}$ und einem Gesamtproteingehalt von $46,4 \text{ g.l}^{-1}$. Die arterio-venöse Differenz betrug $0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$

für das ionisierte Calcium, $-0,22 \text{ mmol.l}^{-1}$ für das Gesamtcalcium und $-2,5 \text{ g.l}^{-1}$ für das Gesamtprotein. 37,8% des Gesamtcalciums lagen im venösen Blut bzw. 37,7% im arteriellen Blut in ionisierter Form vor. Der pH-Wert-Unterschied zwischen arteriellem und venösem Blut (7,50 bzw. 7,42) betrug ähnlich wie bei den männlichen Tieren 0,08 Einheiten bei einer pCO_2 -Differenz von 11,9 mmHg.

Bedingt u.a. durch die höhere Wasserstoffionenkonzentration lag der ionisierte Calciumspiegel des venösen Blutes erwartungsgemäß über dem des arteriellen Blutes. Der prozentuale Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium unterschied sich jedoch nicht signifikant von dem des arteriellen Blutes, da das venöse Blut durch seinen höheren Gesamtproteingehalt auch eine größere Calciumbindungskapazität aufwies.

Unsere Ergebnisse bezüglich der pH-Wert-Differenz stimmen mit den Werten, die HODGES (1969) für arterielles und venöses Blut aus den Oberschenkelgefäßen angibt, ungefähr überein. Nach HODGES (1969) unterscheidet sich der Gesamtcalciumgehalt der A. und V.femoralis bei Hennen nicht signifikant. In unseren Untersuchungen war die arterio-venöse Differenz des Gesamtcalciumgehaltes bei den weiblichen Tieren ($-0,22 \text{ mmol.l}^{-1}$) zwar höher als bei den männlichen Tieren ($-0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$), wegen der großen biologischen Streuung der Gesamtcalciumwerte waren die Unterschiede im Gegensatz zu den Hähnen jedoch statistisch auch nicht signifikant.

Ansonsten variieren die Angaben für den pH-Wert und den Kohlendioxidpartialdruck des arteriellen und venösen Blutes des Haushuhns sowohl wegen der unterschiedlichen Blutentnahmebedingungen als auch wegen der verschiedenen Blutgas-Bestimmungsmethoden und -temperaturen zwischen den einzelnen Autoren relativ stark (CHIODI and TERMAN, 1965; BURTON et al., 1968; BESCH et al., 1971; HAMILTON, 1981).

In unseren Untersuchungen entsprach eine pH-Wert-Differenz zwischen arteriellem und venösem Blut von 0,07-0,08 Einheiten einem Unterschied in der Calciumionenkonzentration von

0,07-0,08 mmol.l⁻¹. Dies läßt einen Zusammenhang zwischen der Calcium- und Wasserstoffionenkonzentration des Blutes annehmen.

Auf die direkte Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration vom pH-Wert des Blutes bei adulten Hennen wiesen auch ODOM et al. (1986) unter in vivo-Bedingungen hin. Durch Provokation einer respiratorischen Alkalose infolge einer Hyperventilation nach Erhöhung der Umgebungstemperatur fiel der ionisierte Calciumspiegel des arteriellen Blutes signifikant ab.

Zur Überprüfung ob eine Abhängigkeit der Calciumionenkonzentration von der Wasserstoffionenkonzentration auch unter in vitro-Bedingungen besteht, erwies sich die Begasung mit unterschiedlichen Kohlendioxidkonzentrationen (4,0 und 8,0 Vol.%) als praktikables Verfahren, den pH-Wert von Blutproben ohne Beeinträchtigung des Blutes durch Verdünnung, Hämokonzentration oder Hämolyse zu variieren und so das Verhalten des ionisierten Calciums zu analysieren (NIGHTINGALE and FEDDE, 1972).

Durch Senkung des pH-Wertes um 0,1 Einheiten stieg die Calciumionenkonzentration im venösen Blut von Legehennen unter in vitro-Bedingungen um jeweils 0,04 mmol.l⁻¹ an.

Auch SCHEIBENHOFFER (1984) beobachtete bei CO₂-Begasung von Blutproben 10 Wochen alter Masthähnchen eine annähernd lineare Erhöhung des ionisierten Calciums.

Wie bereits andere Autoren beim Menschen festgestellt haben (THODE et al., 1983; KÖLLING, 1984), besteht also auch beim Huhn sowohl unter in vivo- als auch unter in vitro-Bedingungen eine negative Korrelation zwischen dem ionisierten Calcium und dem pH-Wert des Blutes. Diese kann durch zahlreiche Faktoren, wie z.B. die Proteinkonzentration und Änderungen in der Bikarbonat- und Laktatkonzentration sowie des Plasmawasser-Anteils beeinflußt werden (THODE et al., 1983; ODOM et al., 1986). Die Ursache für die Änderung der Konzentration des ionisierten Calciums in Abhängigkeit vom pH-Wert wird in

einer unterschiedlichen Bindungsaffinität der Proteine bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen gesehen.

Ein direkter Vergleich der absoluten Werte unserer Untersuchungen mit denen anderer Species ist jedoch nicht angebracht, da bei der Legehennen der Großteil der Calciumionen an Vitellogenin und nicht an Albumin gebunden ist und dieses Protein eine andere Bindungsaffinität für Calciumionen aufweist (GUYER et al., 1980; GRUNDER et. al., 1980a,b).

Da bei Hühnern die Calciumbindung an Proteine im Blut eine hohe Alters- und Geschlechtsspezifität aufweist, sind zur vollständigen Klärung der Frage inwieweit der Anteil des ionisierten Calciums von der Wasserstoffionenkonzentration unter in vivo- und in vitro-Bedingungen abhängig ist, noch weitere Untersuchungen erforderlich.

- Einfluß des Alters der Hühner

Bei Hennen besteht eine wesentlich deutlichere Altersabhängigkeit des Calciumstoffwechsels als bei Hähnen, da sich der Organismus mit dem Beginn der Legetätigkeit an die hohen leistungsbedingten Stoffwechselanforderungen anpassen muß.

Wegen der technischen Probleme bei Küken und bei Junghühnern brauchbare Katheter zu legen, wurde bei den Vergleichsuntersuchungen verschiedener Altersklassen ausschließlich venöses Punktionsblut nüchterner Tiere herangezogen.

Sowohl die Gesamtcalcium- ($2,65 \pm 0,07 \text{ mmol.l}^{-1}$) als auch die Gesamtproteinkonzentration des Plasmas ($29,5 \pm 1,4 \text{ g.l}^{-1}$) stiegen bei den 3 Wochen alten männlichen Tieren bis nach dem Eintritt der Geschlechtsreife um $0,20 \text{ mmol.l}^{-1}$ bzw. um $13,1 \text{ g.l}^{-1}$ an. Der ionisierte Calciumspiegel blieb im Laufe der Entwicklung relativ konstant auf durchschnittlich $1,43 \text{ mmol.l}^{-1}$ und der prozentuale Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium fiel von 54,0% auf 49,1% ab.

Eine Erhöhung des Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehaltes des venösen Blutes bei heranwachsenden männlichen Tieren

wurden auch von DENT et al. (1969) bzw. SCHELLNER (1971) beobachtet.

Bei den weiblichen Tieren waren sowohl die Erhöhung des Gesamtcalcium- als auch des Gesamtproteinspiegels des Blutes mit Eintritt der Geschlechtsreife stärker ausgeprägt. Mit 6 Wochen betrug die Gesamtcalciumkonzentration des Plasmas $2,68 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$ und die Gesamtproteinkonzentration $37,6 \pm 3,0 \text{ g.l}^{-1}$, mit 25 Wochen wurde ein um $3,2 \text{ mmol.l}^{-1}$ höherer Gesamtcalciumgehalt sowie ein um $20,1 \text{ g.l}^{-1}$ höherer Gesamtproteingehalt ermittelt. Außerdem stieg die Calciumionenkonzentration von $1,45 \text{ mmol.l}^{-1}$ signifikant an auf $1,59 \text{ mmol.l}^{-1}$. Der Ionisationsgrad des Calciums fiel in derselben Zeit von 54,1% auf durchschnittlich 27,1% ab.

Unsere Ergebnisse hinsichtlich des Verhaltens des ionisierten Calciums und des Gesamtcalciums stimmen mit den Beobachtungen von COMBS et al. (1979) und PARSONS und COMBS (1981) sehr gut überein. Der prozentuale Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium sank von 45-50% bei den Junghennen nach Eintritt der Geschlechtsreife abrupt ab auf ca. 30% (COMBS et al., 1979). Ein Ansteigen der Gesamteiweißwerte um ca. 20 g.l^{-1} stellten auch OBERDORFER (1970) und SCHELLNER (1971) bei weiblichen Hühnern fest.

Diese Vorgänge während der Wachstumsphase der Hennen sind größtenteils den Wirkungen der Sexualhormone zuzuschreiben. Durch den stimulierenden Effekt der Östrogene und des Parathormons auf die Bildung des 1,25-Dihydroxycholecalciferols und dessen Wirkung wird die Calciumabsorptionsrate aus dem Darm gesteigert und Calcium aus dem Knochen mobilisiert.

Östrogene induzieren die Synthese der calciumbindenden Proteine des Plasmas in der Leber (URIST et al., 1958; DEELEY et al., 1975; GRUNDER et al., 1980b; KOCH et al., 1984b). Diese treten jetzt vermehrt im Blut auf und es kommen Proteine hinzu, wie z.B. Vitellogenin, die bei den Jungtieren noch nicht vorhanden sind (OBERDORFER, 1970; SCHELLNER, 1971;

GUYER et al., 1980). Die Erhöhung der Calciumbindungskapazität des Blutes erklärt den Abfall des Ionisationsgrades des Calciums.

- Einfluß des Geschlechts

Beim Haushuhn besitzt das Geschlecht einen entscheidenden Einfluß auf die Höhe der Calciumfraktionen im Blut.

Betrachtet man die von uns erhaltenen Werte für venöses Punktionsblut, so bestehen bei Jungtieren weder bezüglich des ionisierten Calciums noch bezüglich des Gesamtcalciums geschlechtsspezifische Unterschiede.

Nach Eintritt der Geschlechtsreife wurde bei den 25 Wochen alten Hennen ($1,59 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$) ein um 13% höherer ionisierter Calciumspiegel als bei gleichaltrigen Hähnen ($1,40 \pm 0,05 \text{ mmol.l}^{-1}$) festgestellt. Der Gesamtcalciumgehalt des Plasmas von Hennen ($5,87 \pm 1,47 \text{ mmol.l}^{-1}$) und Hähnen ($2,85 \pm 0,10 \text{ mmol.l}^{-1}$) unterschied sich um 106% und der Gesamtproteingehalt um 28% ($54,7 \pm 4,3$ vs. $42,6 \pm 3,7 \text{ g.l}^{-1}$). Bei den weiblichen Tieren lagen 27,1% des Gesamtcalciums in ionisierter Form vor, bei den männlichen 49,1%.

Bei einem Vergleich von adulten Truthennen und -hähnen kamen McMURTRY et al. (1984) zu ähnlichen Ergebnissen.

Bezüglich der Calciumionenkonzentration des Blutes gibt es in der Literatur für das Huhn keine direkte Gegenüberstellung gleichaltriger weiblicher und männlicher Tiere.

Über durchschnittlich 130% höhere Gesamtcalciumspiegel bei Hennen im Vergleich zu Hähnen berichteten HURWITZ (1968), DENT et al. (1969) und HAMILTON (1981). Signifikant höhere Gesamteiweißwerte bei weiblichen Tieren im Vergleich zu männlichen fanden STURKIE und NEWMAN (1951), OBERDORFER (1970), SCHELLNER (1971) sowie VERMA et al. (1975).

Wurden beim Geschlechtsvergleich arterielles und venöses Katheterblut ausgewachsener Hühner herangezogen, was bisher

kein anderer Autor untersuchte, fielen die Unterschiede zwischen Hennen und Hähnen in Bezug auf die Gesamtcalcium- und Gesamtproteinkonzentration des Plasmas wesentlich geringer aus als im Punktionsblut.

Sowohl das arterielle als auch das venöse Blut der Hennen wies einen um ca. 40% höheren Gesamtcalciumgehalt, einen um ca. 9% höheren Gesamtproteingehalt sowie einen um ca. 8% höheren ionisierten Calciumspiegel auf als das von Hähnen. Der Ionisationsgrad belief sich auf 39% bei den Hennen und auf 51% bei den Hähnen.

In Bezug auf den pH-Wert und den Kohlendioxidpartialdruck unterschieden sich weder das arterielle noch das venöse Blut der Hennen von dem der Hähne.

HAMILTON (1981) konnte ebenfalls keine geschlechtsspezifischen Unterschiede des Säure-Basen- und Blutgas-Status des venösen Blutes von Hühnern feststellen.

Die Ursache für diese Diskrepanz zwischen Punktions- und Katheterblut besteht möglicherweise in dem unterschiedlichen Ausmaß des Einflusses der Blutentnahmetechnik bei Hennen und Hähnen. Da die Venen der weiblichen Tiere im Vergleich zu den männlichen kleiner sind, wurden sie bei der Gefäßpunktion länger und mit stärkerem Druck gestaut. Außerdem besteht ein bedeutender Unterschied in der Plasmaproteinzusammensetzung zwischen Hähnen und Hennen (McINDOE, 1959; LUSH, 1963; SCHELLNER, 1971). Vitellogenin, eines der Hauptbindungsproteine für Calcium im Blut von Legehennen besitzt mit $5,0-6,0 \times 10^5$ (DEELEY et al., 1975; GUYER et al., 1980) ein wesentlich höheres Molekulargewicht als Albumin (ca. 6×10^4), das bei Hähnen den Großteil des Calciums bindet (URIST et al., 1958). Der hohe hydrostatische Druck in den Blutgefäßen, bedingt durch die Venostase und den Blutentnahmestreß kann bei Hähnen zu einem teilweisen Austritt von Albumin und damit auch von Calcium aus dem intravasalen Raum führen, wohingegen dies für Vitellogenin wegen seiner Größe nicht möglich ist. Diese

Tatsache erklärt, daß die Hämokonzentration und die hämodynamischen Veränderungen bei den weiblichen Tieren wesentlich ausgeprägter sind als bei den männlichen.

Zur vollständigen Klärung dieser These bedarf es noch weiterer Untersuchungen, wobei neben der Calciumbestimmung auch die separate Analyse der einzelnen calciumbindenden Proteinfractionen des Plasmas wichtig wäre.

Verantwortlich für die Geschlechtsspezifität des Calciumspiegels im Blut sind vor allem die Östrogene. Sie führen bei den weiblichen Tieren zu einem Anstieg des Gesamtcalciumspiegels und zwar vorwiegend durch Erhöhung der proteingebundenen Calciumfraktion (URIST et al., 1958; GRUNDER et al., 1980b; KOCH et al., 1984b; BOLDEN et al., 1984). Durch das Auftreten neuer Proteine im Plasma, wie z.B. Vitellogenin, mit einer höheren Bindungsaffinität für Calciumionen verschiebt sich das Gleichgewicht zwischen dem ionisierten und dem proteingebundenen Calcium zugunsten der proteingebundenen Calciumfraktion.

- Einfluß der Nahrungsaufnahme

Die Nahrungsaufnahme bzw. der Nahrungsentzug sind weitere Faktoren, die zu Veränderungen der Calciumkonzentration im Blut führen können.

Sowohl im venösen als auch im arteriellen Blut von adulten Hähnen fiel der ionisierte Calciumspiegel 7 Stunden nach Futteraufnahme von durchschnittlich $1,35$ bzw. $1,27 \text{ mmol.l}^{-1}$ (1-4 Stunden nach Fütterung) signifikant ab auf $1,27$ bzw. $1,19 \text{ mmol.l}^{-1}$. 9 Stunden später (nach 16-stündiger Nahrungskarenz) erreichte er wieder in etwa sein Ausgangsniveau ($1,33$ bzw. $1,27 \text{ mmol.l}^{-1}$). Die arterio-venöse Differenz belief sich auf durchschnittlich $-0,07 \text{ mmol.l}^{-1}$. Der Gesamtcalciumspiegel des venösen und arteriellen Blutes veränderte sich nicht signifikant. Er betrug durchschnittlich $2,62$ bzw. $2,51 \text{ mmol.l}^{-1}$ kurz nach Futteraufnahme und $2,69$ bzw.

2,55 mmol.l⁻¹ nach 16-stündigem Futterentzug.

Eine Abhängigkeit des Gesamtproteingehaltes und des Säure-Basen- und Blutgas-Status von der Nahrungsaufnahme war nicht ersichtlich.

Unsere Beobachtungen sprechen dafür, daß die Calciumionenkonzentration des Blutes 7 Stunden nach Futteraufnahme durch Abnahme der Calciumabsorption aus dem Darm sinkt und als Folge davon endokrine Regulationsmechanismen zur Erhöhung des Blutcalciumspiegels einsetzen, eine Möglichkeit, welche McMURTRY et al. (1984) auch schon in Betracht gezogen hatten. Sie fanden heraus, daß sowohl die Calciumionenkonzentration ($1,12 \pm 0,04$ mmol.l⁻¹) als auch der Gesamtcalciumgehalt ($3,47 \pm 0,13$ mmol.l⁻¹) des venösen Blutes von 4 Wochen alten Truthühnern nach 48-stündigem Futterentzug auf $1,28 \pm 0,02$ bzw. $3,72 \pm 0,12$ mmol.l⁻¹ anstiegen. Auch ROLAND et al. (1972a) stellten fest, daß sich der Gesamtcalciumspiegel des venösen Blutes von Legehennen nach 16-stündigem Futterentzug erhöhte. Die Tiere benötigten mindestens 24 Stunden um sich an die Reduktion der Calciumaufnahme z.B. durch Calciumfreisetzung aus den Knochen oder durch Verminderung der Calciumausscheidung anzupassen.

LOBAUGH et al. (1981) wiesen darauf hin, daß in erster Linie die Calciumionenkonzentration und nicht die Gesamtcalciumkonzentration, möglicherweise über eine Beeinflussung des "Appetitzentrums" im Gehirn, die Calciumaufnahme reguliert.

Neben der Nahrungsaufnahme haben noch andere Faktoren wie insbesondere die Nahrungszusammensetzung, welche wir nicht mitberücksichtigten, einen ausschlaggebenden Effekt auf die Calciumkonzentration des Blutes.

- Einfluß des Legezyklus

Beim Haushuhn sind sowohl der ionisierte Calciumspiegel als auch der Gesamtcalciumspiegel des Blutes periodischen Schwankungen in Abhängigkeit vom Legezyklus unterworfen.

Die Konzentration des ionisierten Calciums im Blut von Hennen folgte während eines Legezyklus dem Verlauf einer Sinuskurve. Maxima ($1,58 \pm 0,11$ im venösen bzw. $1,48 \pm 0,11$ mmol.l⁻¹ im arteriellen Blut) wurden 3-6 Stunden nach Eiablage und Minima ($1,26 \pm 0,12$ bzw. $1,19 \pm 0,14$ mmol.l⁻¹) 18-21 Stunden nach Eiablage beobachtet, wobei die Calciumionenkonzentration des venösen Blutes um durchschnittlich $0,08$ mmol.l⁻¹ über der des arteriellen Blutes lag.

Der Gesamtcalciumspiegel veränderte sich in etwa parallel zu der Konzentration des ionisierten Calciums. 6-9 Stunden nach Eiablage erreichte er die höchsten Werte ($4,24 \pm 0,87$ mmol.l⁻¹ im venösen bzw. $4,15 \pm 0,91$ mmol.l⁻¹ im arteriellen Blut), 21-24 Stunden nach Eiablage die niedrigsten ($3,25 \pm 0,74$ bzw. $2,99 \pm 0,68$ mmol.l⁻¹). Die arterio-venöse Differenz betrug durchschnittlich $-0,22$ mmol.l⁻¹.

Auch LUCK und SCANES (1979a) und PARSONS und COMBS (1981) beobachteten ähnliche Veränderungen der Calciumionenkonzentration des venösen Blutes von Hennen in Abhängigkeit vom Legezyklus mit maximalen Werten von $1,60$ bzw. $1,41$ mmol.l⁻¹ und minimalen Werten von $1,14$ bzw. $1,21$ mmol.l⁻¹.

Andere Autoren (WINGET and SMITH, 1958; HERTELENDY and TAYLOR, 1961; PAUL and SNETSINGER, 1969; DACKE, 1970; HAMILTON, 1981) stellten fest, daß im venösen Blut 4-7 Stunden nach Eiablage eine maximale Gesamtcalciumkonzentration herrschte und ca. 20 Stunden nach Eiablage eine minimale, wobei die absoluten Werte extrem variierten.

Daß sich die Gesamtcalciumkonzentration des venösen Blutes in den Versuchen von MILLER et al. (1977) und LUCK und SCANES (1979a) nicht veränderte, beruht möglicherweise darauf, daß beide Arbeitsgruppen nicht den vollständigen Verlauf eines Legezyklus untersuchten, sondern nur einzelne Stichproben aus 2 verschiedenen Phasen.

Als Ursache für die Schwankungen des Blutcalciumspiegels wird die Eibildung angesehen. Die proteingebundene Calciumfraktion wird größtenteils für die Dotterbildung benötigt (URIST et

al., 1958), wohingegen die ionisierte Calciumfraktion als Calciumquelle bei der Mineralisation der Eischale dient (DIAMANTSTEIN, 1966; LUCK and SCANES, 1979a) (siehe 2.1.2.). Befindet sich kein Ei in der Schalendrüse, herrscht im Blut eine hohe Calciumionenkonzentration. TAYLOR (1965) und LUCK und SCANES (1978, 1979a) stellten die Hypothese auf, daß ein hoher ionisierter Calciumspiegel die Gonadotropinsekretion fördert und dadurch direkten Einfluß auf die Ovulation ausübt. Nach Eintritt eines Eies in den Uterus fällt die Konzentration des ionisierten Calciums ab, da dieses für die Kalkschalenbildung des Eies herangezogen wird. Dadurch wird die Parathormonsekretion angeregt und es werden vermehrt Calcium und Phosphor aus dem Knochen freigesetzt. Die Calciumionen werden für die Calciumcarbonatbildung benötigt und der Phosphorspiegel des Blutes steigt dabei an, da sich die Ausscheidung über die Nieren nicht in dem Maße erhöht, wie die Freisetzung aus dem Knochen stattfindet (PAUL and SNETSINGER, 1969; MILLER et al., 1977; PARSONS and COMBS, 1981). Nach Beendigung der Mineralisation der Eischale steigt die Calciumionenkonzentration wieder an und induziert eine Calcitoninausschüttung (BRAIMBRIDGE and TAYLOR, 1981). Durch den Einbau von Calcium und Phosphor in den medullären Knochen fällt der Phosphorspiegel des Blutes wieder ab (MILLER et al., 1977; PARSONS and COMBS, 1981).

Die von uns gemessenen Werte für den Gesamtcalciumgehalt des Blutes liegen um bis zu 2 mmol.l^{-1} unter den in der Literatur angegebenen Daten. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß wir Katheterblut analysierten und die meisten anderen Autoren Punktionsblut. Die Ergebnisse der mittels Katheter gewonnenen Blutproben sind als genauer anzusehen, da sie den weiter oben genannten Veränderungen durch die Venostase und den Blutentnahmestress nicht unterliegen. Unsere Gesamtcalciumwerte wurden möglicherweise durch die 7-tägige Lagerung der Plasmaproben bei -18°C und den Einfluß des Heparins bei der Gesamtcalciumbestimmung mittels Flammenphotometrie (PASCHEN, 1975)

erniedrigt. Der Blut- und damit auch der Plasmaproteinverlust durch die vielen Blutentnahmen an drei aufeinanderfolgenden Tagen können ebenfalls zu einem Abfall des Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehaltes geführt haben. Diese Beobachtung machten auch PARSONS und COMBS (1981), die außer uns als einzige Katheterblut untersuchten.

- Einfluß der Tageszeit

Weiterhin ist bei der Bestimmung des ionisierten Calciums die Uhrzeit der Blutentnahme zu beachten.

Die Calciumionenkonzentration des arteriellen und venösen Blutes von adulten Hähnen wies bei ad libitum Fütterung einen circadianen Rhythmus mit Maximum um 10⁰⁰Uhr (1,35 bzw. 1,41 mmol.l⁻¹) und Minimum um 23⁰⁰Uhr (1,28 bzw. 1,35 mmol.l⁻¹) auf, bei einer relativ konstanten arterio-venösen Differenz. Der Gesamtcalciumgehalt des Blutes veränderte sich im Laufe eines Tages nicht signifikant (durchschnittlich 2,72 mmol.l⁻¹ im arteriellen bzw. 2,85 mmol.l⁻¹ im venösen Blut).

Bei adulten, aber nicht legenden Hennen, konnte eine ähnliche Abhängigkeit des ionisierten Calciums von der Tageszeit ermittelt werden. Der Gesamtcalciumspiegel wurde bei den Hennen wegen des zu großen Blutverlustes nicht bestimmt.

PARSONS und COMBS (1981) stellten bei Junghennen (4 Monate alt) ebenfalls zyklische Schwankungen der Calciumionenkonzentration im venösen Blut fest. Bei Dunkelheit lagen die Werte höher als untertags bei Helligkeit. Sie führten diese Veränderungen auf die Futteraufnahme und/oder den Lichtrhythmus zurück. Die vollständige Trennung dieser beiden Einflüsse ist auch bei ad libitum Fütterung nicht möglich, da Hühner normalerweise in den Morgenstunden ca. 50% der Futtermenge eines Tages aufnehmen und nach 14⁰⁰Uhr nur noch 20% der Tagesration verzehren (ROLAND et al., 1972b).

Die Gegensätze zwischen ihren und unseren Ergebnissen könnten durch den Altersunterschied der untersuchten Tiere zu erklären sein. Die Regulation der Calciumhomöostase läuft bei noch nicht geschlechtsreifen Junghennen anders ab als bei erwachsenen Tieren (PARSONS and COMBS, 1981).

In der Literatur wird sowohl von der Konstanz der Gesamtcalciumkonzentration des venösen Blutes von Junghennen (PARSONS and COMBS, 1981) und erwachsenen Hennen ohne Ei im Eileiter (HERTELENDY and TAYLOR, 1961) als auch von signifikanten Veränderungen derselben in Abhängigkeit von der Tageszeit (ROLAND et al., 1972a; SLOAN et al., 1973) berichtet. Die Ergebnisse von ROLAND et al. (1972a) und SLOAN et al. (1973) sind jedoch kritisch zu beurteilen, da sie für ihre Studien legende Hennen verwendeten, bei denen die beobachteten Schwankungen des Gesamtcalciumspiegels eher auf den Einfluß des Legezyklus als auf den der Tageszeit zurückzuführen sind, zumal SLOAN et al. (1973) selbst diese Möglichkeit in Betracht zogen.

Wie auch McMURTRY et al. (1984) bei legenden Truthennen konnten wir weder bei adulten Hähnen noch bei adulten Hennen eine engere Korrelation zwischen der Konzentration des Gesamtcalciums und der des ionisierten Calciums im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen physiologischen Parametern feststellen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Für Untersuchungen des Calciumstoffwechsels beim Haushuhn und dafür notwendige Serienblutentnahmen erwies sich die Katheterisierung der V. jugularis dextra und der A. ulnaris als am geeignetsten.

Die Bestimmung der Calciumionenkonzentration, des pH-Wertes und des Kohlendioxidpartialdruckes erfolgte in heparinisierten Vollblutproben, die des Gesamtcalcium- und Gesamtprotein-gehaltes in Plasmaproben.

Die Analyse des ionisierten Calciums wurde mittels ionenselektiver Elektroden durchgeführt.

Die Abhängigkeit der ionisierten Calciumfraktion im Blut von verschiedenen methodischen und physiologischen Faktoren unter Berücksichtigung des Gesamtcalcium- und Gesamtprotein-gehaltes sowie des Säure-Basen- und Blutgas-Status wurde beim Haushuhn untersucht.

Die Blutentnahmetechnik wirkt sich auf die Höhe aller gemessenen Parameter aus. Bedingt durch die Venostase und den Blutentnahmestreß bei der Gefäßpunktion liegt sowohl die Calciumionen- und Wasserstoffionenkonzentration als auch der Gesamtcalcium- und Gesamtproteingehalt sowie der Kohlendioxidpartialdruck im Punktionsblut über den entsprechenden Werten im Katheterblut. Das Ausmaß dieser Veränderungen ist bei den Hennen größer als bei den Hähnen.

Der bei 24-stündiger Lagerung von Vollblutproben bei Raumtemperatur (21°C) beobachtete Anstieg des ionisierten Calciums kann durch Kühlung der Proben (4°C) vermieden werden.

Bei 7-tägiger Lagerung von Plasmaproben bei -18°C fällt die Gesamtcalcium- und Gesamtproteinkonzentration der Proben um ca. 5% ab.

Die Konzentration des ionisierten Calciums weist zum pH-Wert des Blutes eine negative Korrelation auf.

Die Calciumionenkonzentration liegt sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Hühnern im venösen Blut um durchschnittlich $0,07-0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$ über der des arteriellen Blutes und der pH-Wert um $0,07-0,08$ Einheiten unter dem des arteriellen Blutes.

Bei Hennen übt das Alter der Tiere einen wesentlich größeren Einfluß auf die Calciumkonzentration des Blutes aus als bei Hähnen. Mit Eintritt der Geschlechtsreife der Hennen und Beginn der Legetätigkeit steigen sowohl der ionisierte Calciumspiegel als auch der Gesamtcalcium- und Gesamtprotein-gehalt des Blutes an und der Ionisationsgrad des Calciums fällt ab.

Bei adulten Hähnen werden im arteriellen sowie im venösen Blut niedrigere Calciumionenkonzentrationen ermittelt als bei Hennen.

7 Stunden nach Nahrungsaufnahme fällt der ionisierte Calciumspiegel sowohl im arteriellen als auch im venösen Blutes vorübergehend ab und erreicht erst 9 Stunden später wieder sein Ausgangsniveau.

Der ionisierte Calciumspiegel schwankt in Abhängigkeit vom Legezyklus. Maximale Calciumionenkonzentrationen werden 3-6 Stunden nach Eiablage ($1,58 \pm 0,11 \text{ mmol.l}^{-1}$ im venösen bzw. $1,48 \pm 0,11 \text{ mmol.l}^{-1}$ im arteriellen Blut) und minimale 18-21 Stunden nach Eiablage ($1,26 \pm 0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$ bzw. $1,19 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$) beobachtet.

Sowohl bei adulten Hähnen als auch bei adulten, nicht legenden Hennen zeigt der ionisierte Calciumspiegel des arteriellen und venösen Blutes einen circadianen Rhythmus mit Maximum um 10⁰⁰ Uhr und Minimum um 23⁰⁰ Uhr.

Die Konzentration des ionisierten Calciums weist mit dem Gesamtcalcium weder bei adulten Hennen noch bei adulten Hähnen eine engere Korrelation auf.

SUMMARY

Blood Ionized Calcium Levels in the Chicken:
Effects of Age, Sex, Feeding, Day-time and Ovulatory Cycle

Catheterization of the V. jugularis dextra and the A. ulnaris proved to be the most suitable method for collecting series of blood samples necessary for investigating calcium metabolism in the chicken.

Ionic calcium concentration, pH, and partial pressure of carbon dioxide (pCO_2) were measured in heparinized whole blood samples, total calcium and total protein in plasma samples.

Ionized calcium was analyzed by means of an ionselective electrode.

The ionized calcium fraction in the blood of chickens was investigated with regard to its dependence on various methods and physiological factors, taking into consideration the total calcium and total protein content, as well as the acid-base and blood gas status.

The blood sampling technique has an effect on all the parameters measured. Due to blood stasis and stress when collecting blood by veinpuncture, the calcium and hydrogen ion concentration, total calcium and total protein, and pCO_2 are all elevated in blood collected by veinpuncture compared to the corresponding values in blood collected by catheterization. This difference is more evident in hens than in roosters.

The observed increase in ionized calcium in whole blood stored 24 hours at room temperature ($21^\circ C$) can be avoided by cooling the samples ($4^\circ C$).

Total calcium and total protein concentrations in plasma decreases by about 5% when the samples are stored for 7 days at $-18^\circ C$.

The ionized calcium concentration shows a negative correlation to the pH of the blood.

In venous blood the calcium ion concentration averages $0.07-0.08 \text{ mmol.l}^{-1}$ higher and the pH $0.07-0.08$ units lower than in arterial blood, in both male and female chickens. The age of the bird has a significant greater influence on the blood calcium concentration in hens than in roosters. As the hens reach sexual maturity and begin laying eggs, the level of ionized calcium increases along with the total calcium and total protein content of the blood, while the degree of calcium ionization decreases.

Mature roosters show lower calcium ion concentrations in both venous and arterial blood compared to hens.

The level of ionized calcium in both arterial and venous blood declines temporarily 7 hours after feeding, and reaches the original level 9 hours later.

The level of ionized calcium varies with the ovulatory cycle. Maximum calcium ion concentrations are observed 3-6 hours after oviposition ($1.58 \pm 0.11 \text{ mmol.l}^{-1}$ in venous and $1.48 \pm 0.11 \text{ mmol.l}^{-1}$ in arterial blood), and minimum concentrations 18-21 hours after oviposition ($1.26 \pm 0.12 \text{ mmol.l}^{-1}$ in venous and $1.19 \pm 0.14 \text{ mmol.l}^{-1}$ in arterial blood).

In both mature roosters and mature, non-laying hens, the ionized calcium levels in arterial and venous blood show a circadian rhythm with a maximum at 10 a.m. and a minimum at 11 p.m.

The ionized calcium concentration shows no close correlation with the total calcium in mature hens or roosters.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ANDERSON, D.L. and P.F.U. CONSUEGRA, 1970
Endocrine control of calcium homeostasis in the fowl.
Poult. Sci. 49, 849-869
- ANDERSON, R.S., 1967
Acid-base changes in excreta of the laying hen.
Vet. Rec. 80, 314-315
- ALSAGER, D.E., 1970
An improved technic for repeated intravenous injection in fowl.
Vet.Med./Small Anim.Clin. 65, 893-898
- ATTEH, J.O. and S. LESSON, 1983
Effects of dietary fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chickens.
Poult. Sci. 62, 2412-2419
- ATTEH, J.O. and S. LESSON, 1984
Effects of dietary saturated fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chicks.
Poult. Sci. 63, 2252-2260
- BAR, A. and S. HURWITZ, 1979
The interaction between dietary calcium and gonadal hormones in their effect on plasma calcium, bone, 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase, and gonadal calcium-binding protein measured by a radioimmunoassay in chicks.
Endocrinol. 104, 1455-1460
- BELJAN, J.R., T.I. MADLEY, A.B. HELLEWELL and L.J. HEIN, 1971
Determination of selected avian blood plasma chemistry values using the Technicon Auto-Analyzer.
Poult. Sci. 50, 229-232
- BERGINK, E.W., H.J. KLOOSTERBOER and M.GRUBER, 1973
Estrogen induced phosphoprotein synthesis in roosters. Kinetics of induction.
Biochim. Biophys. A. 294, 497-506
- BERGINK, E.W., R.A. WALLACE, J.A. VAN DE BERG, E.S. BOS, M. GRUBER and G. AB, 1974
Estrogen-induced synthesis of yolk proteins in roosters.
Am. Zool. 14, 1177-1193
- BESCH, E.L., R.R. BURTON and A.H. SMITH, 1971
Influence of chronic hypoxia on blood gas tensions and pH in domestic fowl.
Am. J. Physiol. 220, 1379-1382

- BEUVING, G. and G.M.A. VONDER, 1977
Daily rhythm of corticosterone in laying hens and the influence of egg laying.
J. Reprod. Fertil. 51, 169-173
- BEUVING, G. and G.M.A. VONDER, 1978
Effect of stress factors on corticosterone levels in the plasma of laying hens.
Gen. Comp. Endocr. 35, 153-159
- BISWAS, C.K., J.M. RAMOS, B. AGROYANNIS and D.N.S. KERR, 1982
Blood gas analysis: Effect of air bubbles in syringe and delay in estimation.
Br. Med. J. 284, 923-927
- BISWAS, C.K., J.M. RAMOS and D.N.S. KERR, 1981
Heparin effect on ionized calcium concentration.
Clin. Chim. Acta 116, 343-347
- BOLDEN, S.L., L.S. JENSEN and K. TAKAHASHI, 1982
Dietary responses in plasma calcium and phosphorus among estrogenized chicks: correlations with liver lipid accumulation.
Poult. Sci. 61, 1420-1421
- BOLDEN, S.L., L.S. JENSEN and K. TAKAHASHI, 1984
Responses in calcium and phosphorus metabolism and hepatic lipid deposition among estrogenized chicks fed various dietary ingredients.
J. Nutr. 114, 591-597
- BOLDEN, S.L. and L.S. JENSEN, 1985a
The effect of marginal levels of calcium, fish meal, torula yeast and alfalfa meal on feed intake, hepatic lipid accumulation, plasma estradiol and egg shell quality among laying hens.
Poult. Sci. 64, 937-946
- BOLDEN, S.L. and L.S. JENSEN, 1985b
Effect of dietary calcium level and ingredient composition on plasma calcium and shell quality in laying hens.
Poult. Sci. 64, 1499-1505
- BOOTZ, F., 1986
Untersuchungen über den Einfluß eines Proteinhydrolysats auf die Eischalenqualität bei Legehennen.
Vet. Med. Diss., München
- BOTTJE, W.G. and P.C. HARRISON, 1985
The effect of tap water, carbonated water, sodium bicarbonate, and calcium chloride on blood acid-base balance in cockerels subject to heat stress.
Poult. Sci. 64, 107-113

- BRAIMBRIDGE K.G. and T.G. TAYLOR, 1981
The role of calcitonin in controlling hypercalcaemia in the domestic fowl (*Gallus domesticus*).
Comp. biochem. physiol. 68A, 647-651
- BUCKLAND, R.B., A. GOLDRÖSEN and D.E. BERRON, 1974
Effect of blood sampling by cardiac puncture on subsequent body weight of broilers and S.C.White Leghorn replacement pullets.
Poult. Sci. 53, 1256-1258
- BUCKNER, G.D., J.H. MARTIN and F.E. HULL, 1930
The distribution of blood calcium in the circulation of laying hens.
Am. J. Physiol. 93, 86-89
- BUNCE, G.E. and J.E. BLOOMER, 1972
Effect of magnesium deficiency on serum urinary ions in rats: studies with ion-selective electrodes.
J. Nutr. 102, 862-972
- BURTON, R.R., E.L. BESCH and A.H. SMITH, 1968
Effect of chronic hypoxia on the pulmonary arterial blood pressure of the chicken.
Am. J. Physiol. 214, 1438-1442
- CALDER, W.A. and K. SCHMIDT-NIELSEN, 1968
Panting and blood carbon dioxide in birds.
Am. J. Physiol. 215, 477-482
- CHANG, S.I. and J. MCGINNIS, 1967
Vitamin D deficiency in adult quail and chickens and effects of estrogen and testosterone treatments.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124, 1131-1135
- CHARLES, E. and L. HOGBEN, 1933
The serum calcium and magnesium level in the ovarian cycle of the laying hen.
Quart. J. exp. Physiol. 23, 343-349
- CHIODI, H. and J.W. TERMAN, 1965
Arterial blood gases of the domestic hen.
Am. J. Physiol. 208, 798-800
- CHRISTMANN, J.L., M.J. GRAYSON and R.C.C. HUANG, 1977
Comparative study of the hen yolk phosphatidylcholine and plasma vitellogenin.
Biochem. 16, 3250-3256
- CIPERA, J.D., 1980
Source of carbon for the biosynthesis of eggshell carbonate in the hen. Comparison of six ^{14}C labeled compounds as sources of carbon in eggshells, albumen, and yolk.
Poult. Sci. 59, 1529-1537

- CLAGETT, C.O., E.G. BUSS and Y. TAMAKI, 1977
Eggshell quality: Calcium metabolism in thick and thin shell genotypes.
Poult. Sci. 56, 1703
- COHEN, I., S. HURWITZ and A. BAR, 1972
Acid-base balance and sodium-to-chloride ratio in diets of laying hens.
J. Nutr. 102, 1-8
- COHEN, I. and S. HURWITZ, 1974
The response of blood ionic constituents and acid-base balance to dietary sodium, potassium and chloride in laying fowls.
Poult. Sci. 53, 378-383
- COMBS, G.F., A.H. PARSONS and M.B. ROSS, 1979
Calcium homeostasis in pullets of two lines selected for differences in eggshell strength.
Poult. Sci. 58, 1250-1256
- DACKE, C.G., 1970
The effects of calcitonin in the domestic fowl.
Ph. D. Thesis, University of Reading
- DAMMERT, S. und H. GEISLER, 1983
Weniger Brücheier durch Fütterungsmaßnahmen.
Dt. Geflügelw. Schweineprod. 35, 666-670
- DARRE, M.J., T.W. ODOM, P.C. HARRISON and F.E. STATEN, 1980
Time course of change in respiratory rate, blood pH and blood pCO₂ of SCWL hens during heat stress.
Poult. Sci. 59, 1598-1599
- DAUBENMERKL, W., 1983
Natürliche und synthetische Glykoside von Vitamin D₃-Metaboliten im Modell der Strontium-induzierten Rachitis am Hühnerküken.
Vet. Med. Diss., München
- DAVIDSON, J. and A.W. BOYNE, 1970
The calcium and phosphorus requirements of laying hens.
Br. Poult. Sci. 11, 231-240
- DEELEY, R.G., K.P. MULLINIX, W. WETEKAM, H.N. KRONENBERG, M. MEYERS, J.D. ELDRIDGE and R.F. GOLDBERGER, 1975
Vitellogenin synthesis in the avian liver: Vitellogenin is the precursor of the yolk phosphoproteins.
J. Biol. Chem. 250, 9060-9066
- DENT, P.B., D.M. BROWN and R.A. GOOD, 1969
Ultimobranchial calcitonin in the developing chicken.
Endocrinol. 85, 582-585

- DEWAR, W.A., C.C. WHITEHEAD, J.N. DOWNIE and E. POTTER, 1975
The retention of calcium, iron, magnesium and zinc in chicks fed on diets containing metal soaps.
Proc. Nutr. Soc. 34A, 5-6
- DIAMANTSTEIN, T. und J. SCHLÜNS, 1964
Lokalisation und Bedeutung der Karboanhydrase im Uterus von Legehennen (Beiträge zur Biochemie der Eischalenbildung).
Acta Histochem. 19, 296
- DIAMANTSTEIN, T., 1966
Über die lokale Rolle der Carboanhydratase im Hinblick auf die Eischalenverkalkung.
Arch. Geflügelk. 30, 309-320
- DURHAM, J.I., R.E. DAVIS, D.W. DEYOE and J.R. COUCH, 1960
Effect of calcium level and phosphorus source on egg production and shell quality.
Poult. Sci. 39, 1246
- EL JACK, M.H., J.C. BLUM and B. SAVEUR, 1978
The effect of high constant and fluctuating temperatures on blood acid-base balance and some components of the laying hen.
Arch. Geflügelk. 42, 123-127
- EL-SHARIF, M.M., M.E. EL-HALAWANI, P.E. WAIBL and G.M. SPEERS, 1975
Uterine arterio-venous differences in calcium and acid-base parameters in the laying hen as influenced by egg position in the oviduct, shell thickness, age, temperature, and vitamin D.
Poult. Sci. 54, 1758
- ESKLAND, D. and A.K. BLOM, 1979
Plasma corticosteroid levels in the laying hens. Effect of two different blood sampling techniques and of rough handling of the animals.
Acta Vet. Scand. 20(2), 270-275
- FREEMAN, B.M., 1971
Stress and the domestic fowl: A physiological appraisal.
Wld. Poult. Sci. J. 27, 263-275
- FREEMAN, B.M. and J.H. FLACK, 1980
Effects of handling on plasma corticosteroid concentration in the immature domestic fowl.
Comp. biochem. physiol. 66A, 77-81
- FREEMAN, B.M. and A.C.C. MANNING, 1976
Mediation of glucagon in the response of the domestic fowl to stress.
Comp. biochem. physiol. 53A, 169-171

- FRIEDEL, R., I. TRAUTSCHOLD, K. GÄRTNER, M. HELLE-FELDMANN und D. GAUDSSUHN, 1975
Einfluß verschiedener Methoden zur Blutgewinnung auf Enzym-Aktivitäten im Serum kleiner Laboratoriumstiere.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 499-505
- GÄRTNER, K., D. BÜTTNER, K. DÖHLER, R. FRIEDEL, J. LINDENA and I. TRAUTSCHOLD, 1980
Stress response of rats to handling and experimental procedures.
Laboratory Animals 14, 267-274
- GANTER, M., 1986
Narkosen mit Ketamin-HCl, Xylazin, Diazepam, Timacolum und Pentobarbital-Na bei der Taube.
Vet. Med. Diss., Hannover
- GEHRKE, L., R.E. BAST and J. ILAN, 1978
Effects of estradiol on protein synthesis and half-transit time in cockerel liver explants.
Fed. Proc. 37, 1626
- GIRNDT, J., H.V. HENNING and G. DELLING, 1979
Correlation of calcium and acid-base metabolism.
Horm. Metab. Res. 11, 587-588
- GOHARY, S.G., 1978
Der Einfluß des Blutentnahmestresses auf einige Blutmeßwerte beim Schaf.
Vet. Med. Diss., Hannover
- GORALCZYK, R., 1985
Die biologische Aktivität natürlicher und synthetischer 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Metabolite beim Hühnerküken.
Vet. Med. Diss., München
- GORDON, J.I., R.G. DEELEY, A.T.H. BURNS, B.M. PATERSON, J.L. CHRISTMANN and R.F. GOLDBERGER, 1977
In vitro translation of avian vitellogenin in messenger RNA.
J. Biol. Chem. 252, 8320-8327
- GRANT, E.A. and C.O. PARKES, 1974
The influence of egg shell formation and the autonomic inhibitory drugs atropine, phenoxybenzamine and propranolol on ⁴⁵Ca loss from the plasma of the domestic hen.
Poult. Sci. 53, 1061-1066
- GRIMA, J.M. and M.J.D. BRAND, 1977
Activity and interference effects in measurement of ionized calcium with ion sensitive electrodes.
Clin. Chem. 23, 2048-2054
- GRUNDER, A.A., R.B. GUYER, E.G. BUSS and C.O. CLAGETT, 1980a
Calcium-binding proteins in serum: quantitative differences between thick and thin shell lines of chickens.
Poult. Sci. 59, 880-884

- GRUNDER, A.A., R.B. GUYER, E.G. BUSS and C.O. CLAGETT, 1980b
Effect of estradiol on calcium and calcium binding in
serum of thick and thin shell lines of chickens.
Poult. Sci. 59, 2776-2781
- GRUNDER, A.A., K.G. HOLLANDS and C.P.Q. TSANG, 1983
Plasma estrogen, calcium, and shell quality in two strains
of White Leghorns.
Poult. Sci. 62, 1294-1296
- GUYER, R.B., A.A. GRUNDER, E.G. BUSS and C.O. CLAGETT, 1978
Calcium-binding proteins in serum of chickens.
Fed. Proc. 37, 1534
- GUYER, R.B., A.A. GRUNDER, E.G. BUSS and C.O. CLAGETT, 1980
Calcium-binding proteins in serum of chickens:
vitellogenin and albumin.
Poult. Sci. 59, 874-879
- HAKANSSON, J., 1975a
The effect of fat on calcium, phosphorus and magnesium in
laying hens.
Swed. J. Agri. Res. 5, 3-9
- HAKANSSON, J., 1975b
The effect of fat on calcium, phosphorus and magnesium
balances in chicks.
Swed. J. Agri. Res. 5, 145-157
- HAMILTON, R.M.G., 1977
A system for housing catheterized laying hens without
restraint.
Poult. Sci. 56, 1720
- HAMILTON, R.M.G., 1981
The effects of strain, age, time after oviposition, and
egg specific gravity on acid-base balance in White Leghorn
hens.
Poult. Sci. 60, 1944-1950
- HAMILTON, R.M.G., A.A. GRUNDER, B.K. THOMPSON and K.G.
HOLLANDS, 1981
Relationship between blood ionized calcium levels and
shell strength of eggs laid by White Leghorn hens.
Poult. Sci. 60, 2380-2384
- HAMILTON, R.M.G. and B.K. THOMPSON, 1980
Effects of sodium plus potassium to chloride ratio in
practical-type diets on blood gas levels in three strains
of White Leghorn hens and the relationship between acid-
base balance and egg shell strength.
Poult. Sci. 59, 1294-1302
- HARMS, R.H. and P.W. WALDROUP, 1971
The effect of high dietary calcium on the performance of
laying hens.
Poult. Sci. 50, 967-969

- HARRISON, P.C., B. MAIN and W.G. BOTTJE, 1982
Changes in the blood acid-base balance and blood ionized calcium concentration of SCWL hens during an acute heat stress.
Poult. Sci. 61, 1519-1520
- HARVEY, S., J.G. PHILLIPS, A. REES and T.R. HALL, 1984
Stress and adrenal function.
J. exp. Zool. 232, 633-646
- HASELBAUER, R., 1980
Wirkungsvergleich von Trisetum flavescens, Vitamin D₃, D₃-Estern und D₃-Metaboliten am Modell Strontiumrachitis.
Vet. Med. Diss., München
- HERTELENDY, F. and T.G. TAYLOR, 1961
Changes in blood calcium associated with egg shell calcification in the domestic fowl. 1. Changes in the total calcium.
Poult. Sci. 40, 108-114
- HINNERS, S.W., J.T. GHOLSON and M.L. RITCHASON, 1963
The effect of varying levels of calcium and phosphorus on egg production and egg quality.
Poult. Sci. 42, 1277
- HIRSCH, P.F. and P.L. MUNSON, 1969
Thyrocalcitonin.
Physiol. Rev. 49, 548-622
- HODGES, R.D., 1969
pH and mineral ion levels in the blood of the laying hen (Gallus domesticus) in relation to egg shell formation.
Comp. biochem. physiol. 28, 1243-1257
- HODGES, R.D., 1970
Blood pH and cation levels in relation to egg shell formation.
Ann. Biol. Anim. 10 (Suppl.2), 199-213
- HODGES, R.D. and K. LÖRCHER, 1967
Possible sources of the carbonate fraction of egg shell calcium carbonate.
Nature 216, 609-610
- HOFSTAD, M.S., 1950
A method of bleeding chickens from the heart.
J. Am. Vet. Assoc. 116/117, 353-354
- HUNSAKER, W.G. and P.D. STURKIE, 1961
Removal of calcium from uterine blood during shell formation in the chicken.
Poult. Sci. 40, 1348-1352

- HUBER, J., 1986
Immungenetische Untersuchungen am Araukanerhuhn (*Gallus gallus araukana*).
Vet. Med. Diss., München
- HURWITZ, S., 1968
Calcium exchange in plasma of the fowl.
Biochim. biophys. A. 156, 389-393
- HURWITZ, S., 1978
Calcium metabolism in birds.
Chem. Zool. 10, 273-306
- HURWITZ, S. and A. BAR, 1966
Calcium depletion and repletion in laying hens. 1. Effect on calcium in various bone segments, in egg shell, and blood plasma, and on calcium balance.
Poult. Sci. 45, 345-352
- HURWITZ, S. and S. BORNSTEIN, 1966
The effect of high dietary calcium on the performance of laying hens fed rations of varying energy levels.
Poult. Sci. 45, 805-809
- HURWITZ, S. I. COHEN, A. BAR and S. BORNSTEIN, 1973
Sodium and chloride requirements of the chick: relationship to acid-base balance.
Poult. Sci. 52, 903-909
- HUSDAN, R., A. RAPOPORT, S. LOCKE and D. OREOPOULOS, 1974
Effects of venous occlusion of the arm on the concentration of calcium in serum and methods for its compensation.
Clin. Chem. 20, 529-532
- JOHNSON, A.L., 1981
Comparison of three serial blood sampling techniques on plasma hormone concentrations in the laying hen.
Poult. Sci. 60, 2322-2327
- JOSHUA, I.G., P. PODBESEK and W.J. MUELLER, 1977
A limited restraint harness for use in long-term infusion of chickens.
Poult. Sci. 56, 1332-1333
- JOUBERT, F.J. and W.H. COOK, 1958
Preparation and characterization of phosvitin from hen egg yolk.
Can. J. biochem. physiol. 36, 399-408
- KÄHLKE, M., 1961
Elektrophoretische Untersuchungen über die Zusammensetzung der Serumweißfraktionen gesunder und mit *Salmonella gallinarum pullorum* infizierter Hühner mit dem Mikroelektrophoresegerät nach Antweder.
Vet. Med. Diss., Gießen

- KAPPAUF, B.K., 1971
Plasma progesterone concentration in the laying hen.
M. S. Thesis, Cornell University, Ithaca, NY
- KAPPAUF, B.K. and A. van TIENHOVEN, 1972
Progesterone concentrations in the peripheral plasma of laying hens in relation to time of ovulation.
Endocrinol. 90, 1350-1355
- KILEY, J.P., W.D. KUHLMANN and M.R. FEDDE, 1980
Arterial and mixed venous blood gas tensions in exercising ducks.
Poult. Sci. 59, 914-917
- KNOWLES, H.R., E.B. HART and J.G. HALPIN, 1935
The variation in the calcium level of the blood of the domestic fowl.
Poult. Sci. 14, 83-89
- KOCH, J., R.F. WIDEMAN and E.G. BUSS, 1984a
Blood ionic calcium response to hypocalcemia in the chicken induced by ethyleneglycol-bis-(B-aminoethylether)-N,N'-tetraacetic acid: Role of the parathyroids.
Poult. Sci. 63, 167-171
- KOCH, J., E.G. BUSS and R.F. WIDEMAN, 1984b
Blood ionic calcium responses of hens from thick-and thin-shell lines to ethyleneglycol-bis-(B-aminoethylether)-N,N'-tetraacetic acid injections.
Poult. Sci. 63, 172-175
- KÖLLING, K., 1984
Die Bedeutung verschiedener methodischer und physiologischer Faktoren für die Höhe der ionisierten Calciumfraktionen in Blut und Liquor.
Med. Diss., München
- KRAINTZ, L. and K. INTSCHER, 1969
Effect of calcitonin on the domestic fowl.
Can. J. Physiol. Pharm. 47, 313-315
- LADENSON, J.H. and G.N. BOWERS Jr., 1973
Free calcium in serum. II. Rigor of homeostatic control, correlations with total serum calcium, and review of data on patients with disturbed calcium metabolism.
Clin. Chem. 19, 575-582
- LATIMER, J.W., H.S. SIEGEL and B.W. MITCHELL, 1981
A harness for repeated blood sampling of unrestrained chickens.
Poult. Sci. 60, 2353-2355
- LOBAUGH, B., 1981
Humoral regulation of calcium appetite in chickens.
Diss. Abstr. Int. B 42(1) 87

- LOBAUGH, B., J.G. JOSHUA and W.J. MUELLER, 1981
Regulation of calcium appetite in broiler chickens.
J. Nutr. 111, 298-306
- LÖRCHER, K. and R.D. HODGES, 1969
Some possible mechanisms of formation of the carbonate fraction of egg shell calcium carbonate.
Comp. biochem. physiol. 28, 119-128
- LUCK, M.R. and C.G. SCANES, 1978
Gonadotropin secretion in the domestic fowl during calcium deficiency.
Gen. Comp. Endocr. 34, 80-81
- LUCK, M.R. and C.G. SCANES, 1979a
Plasma levels of ionized calcium in the laying hen.
Comp. biochem. physiol. 63A, 177-181
- LUCK, M.R. and C.G. SCANES, 1979b
The relationship between reproductive activity and blood calcium in the calcium-deficient hen.
Br. Poult. Sci. 20, 559-564
- LUCK, M.R., B.A. SOMMERVILLE and C.G. SCANES, 1980
The effect of eggshell calcification on the response of plasma calcium activity to parathyroid hormone and calcitonin in the domestic fowl (*Gallus domesticus*).
Comp. biochem. physiol. 65A, 151-154
- LUSH, I.E., 1963
The relationship of egg laying to changes in the plasma proteins of the domestic fowl.
Br. Poult. Sci. 4, 255-259
- MacARTHUR, F.X., 1950
Simplified heart puncture in poultry diagnosis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 116/117, 38-39
- MARDER, J., Z. ARAD and M. GAFNI, 1974
The effect of high ambient temperatures on acid-base balance of panting Bedowin fowl (*Gallus domesticus*).
Physiol. Zool. 47, 180-189
- McINDOE, W.M., 1959
A lipophosphoprotein complex in hen plasma associated with yolk production.
Biochem. J. 72, 153-159
- McMURTRY, J.P. and D.M. BROCHT, 1984
A surgical technique for serial blood sampling or continuous infusion of adult turkey hens.
Poult. Sci. 63, 1661-1663
- McMURTRY, J.P. and L.T. FROBISH, 1981
Blood calcium and magnesium response to estrogen in caged and floor-housed turkey hens.
Poult. Sci. 60, 1688

- McMURTRY, J.P., R.W. ROSEBROUGH and N.C. STEELE, 1984
Studies on blood calcium relationships in the turkey.
Poult. Sci. 63, 2094-2099
- MILES, R.D., 1982
Update in egg quality.
Proc. Florida Nutr. Conf., p. 59-77
- MILLER, E.R., H.R. WILSON and R.H. HARMS, 1977
Serum calcium and phosphorus levels in hens relative to
the time of oviposition.
Poult. Sci. 56, 1501-1503
- MILLER, E.R., H.R. WILSON and R.H. HARMS, 1978
The relationship of production status to serum calcium and
phosphorus in hens.
Poult. Sci. 57, 242-245
- MOHSIN, M. and A.K. PAL, 1977
The effect of the plant estrogen, coumestrol, on the blood
calcium, phosphorus and cholesterol in White Leghorn
chickens at their two different ages.
J. Anim. Morph. Physiol. 24, 365-372
- MONGIN, P., 1968
Role of acid-base balance in physiology of egg shell
formation.
Wld. Poult. Sci. J. 24, 200-230
- MONGIN, P., 1980
Roles of sodium, potassium and chloride in egg shell
quality.
Proc. Florida Nutr. Conf., p. 213-223
- MONGIN, P. et L. LACASSAGNE, 1964
2. Physiologie de la formation de la coquille de l'oeuf de
poule et équilibre acido-basique du sang.
C. R. Acad. Sci. (Paris) 258, 3093-3094
- MONGIN, P. et L. LACASSAGNE, 1966
Équilibre acido-basique du sang et formation de la
coquille de l'oeuf.
Ann. Biol. Anim. 6, 93-100
- MONGIN, P. and W.J. MUELLER, 1973
Normal buffer lines for oxygenated and deoxygenated blood
of the laying hen.
Comp. biochem. physiol. 44A, 221-227
- MONGIN, P. and B. SAVEUR, 1970
Équilibre acido-basique du sang et composition ionique du
plasma chez la poule en hypercapnie chronique.
Ann. Biol. Anim. 10 (Suppl.2), 141-150

- MOORE, E.W., 1970
Ionized calcium in normal serum, ultrafiltrates and whole blood determined by ion-exchange electrodes.
J. Clin. Res. 49, 318-334
- MORGAN, G.W. and B. GLICK, 1972
A quantitative study of serum proteins in bursectomized and irradiated chickens.
Poult. Sci. 51, 771-778
- MORGAN, D.J. and P.K. UPTON, 1975
The effect of sampling technique on acid-base and other blood parameters in the sheep.
Laboratory Animals, 9, 93-98
- NIGHTINGALE, T.E., 1977
Comparison of cardiopulmonary parameters in awake and anesthetized chickens.
Poult. Sci. 56, 147-153
- NIGHTINGALE, T.E. and M.R. FEDDE, 1972
Determination of normal buffer line for chicken blood.
Respir. Phys. 14, 353-365
- NIGHTINGALE, T.E., M.R. FEDDE and W.D. KUHLMANN, 1975
Changes in pCO_2 and pH in blood samples from Gallus domesticus at ambient temperatures.
Comp. biochem. physiol. 50A, 569-573
- NIGHTINGALE, T.E. and J.D. RICHARDI, 1977
Comparison of right atrial and pulmonary arterial pO_2 , pCO_2 , and pH in Gallus domesticus.
Comp. biochem. physiol. 56A, 169-171
- NORDSTROM, J.O. and A.H. SMITH, 1970
Technique for multiple veinpuncture blood sampling in the chicken.
Poult. Sci. 49, 329-330
- OBERDORFER, A., 1970
Zur Regulation der Proteinbiosynthese durch Sexualhormone: die Wirkung von Östradiolbenzoat und von Testosteronpropionat auf die Konzentration von Serumproteinen.
Acta endocr. 64, Suppl. 143
- ODOM, T.W., 1982
The effects of high environmental temperature induced acid-base disturbance in the utilization of calcium in the domestic hen.
Ph. D. Thesis, Univ. Illinois, Urbana, Ill.
- ODOM, T.W., P.C. HARRISON and M.J. DARRE, 1985
The effect of drinking carbonated water in the egg shell quality of Single Comb White Leghorn hens exposed to high environmental temperature.
Poult. Sci. 64, 594-596

- ODOM, T.W., P.C. HARRISON and W.G. BOTTJE, 1986
Effects of thermal-induced respiratory alkalosis on blood ionized calcium levels in the domestic hen.
Poult. Sci. 65, 570-573
- PARSONS, A.H., 1980
Factors influencing blood calcium levels in the domestic fowl.
Diss. Abstr. Int. 41B (3) 900
- PARSONS, A.H. and G.F. COMBS, 1980
Influence of diet in calcium homeostasis in the chick.
Poult. Sci. 59, 1648
- PARSONS, A.H. and G.F. COMBS, 1981
Blood ionized calcium cycles in the chicken.
- PASCHEN, K., 1975
Die Bestimmung des Calciums und seiner Fraktionen im Serum.
G. Thieme Verlag, Stuttgart
- PAUL, H.S. and D.C. SNETSINGER, 1969
Dietary calcium and phosphorus and variations in plasma alkaline phosphatase activity in relationship to physical characteristics of egg shells.
Poult. Sci. 48, 241-250
- PEPPER, W.F., C.M. WRIGHT and S.J. SLINGER, 1961
Influence of calcium and ascorbic acid on egg quality.
Poult. Sci. 40, 657-662
- PHILIPS, R.W., A.D. MITCHELL and C.F. NICKELS, 1971
A system for metabolic studies in chickens.
Poult. Sci. 50, 279-281
- PFLÜGER, H.-G., 1986
Einfluß natürlicher und synthetischer Vitamin-D-Metabolite auf die Knochencalciummobilisierung beim Hühnerküken.
Vet. Med. Diss., München
- POLIN, D. and P.D. STURKIE, 1957
The influence of the parathyroids on blood calcium and shell deposition in laying hens.
Endocrinol. 60, 778-784
- QUISENBERRY, J.H. and J.C. WALKER, 1970
Calcium sources for egg production and shell quality.
Poult. Sci. 49, 1429
- RADDE, I.C., D.K. PARKINSON, J. SKEEPERS and A. LUCKHAM, 1971
Practical aspects of a measurement technique for calcium ion activity in plasma.
Clin. Chem. 17, 1002-1006

- RADKE, W.J., C.M. ALBASI, A. REES and S. HARVEY, 1985
Stress and ACTH stimulate aldosterone secretion in the fowl (*Gallus domesticus*).
Comp. biochem. physiol. 82A (2), 285-288
- RAMBECK, W.A., H. WEISER, R. HASELBAUER and H. ZUCKER, 1981
Vitamin D activity of different Vitamin D₃ Esters in chickens, Japanese quail and in rats.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 51, 353-358
- RAMBECK W.A., H. WEISER and H. ZUCKER, 1984a
Biological activity of glycosides of vitamin D₃ and 1 α -hydroxyvitamin D₃.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 54, 25-34
- RAMBECK, W.A., H. WEISER and H. ZUCKER, 1984b
Biological activity of 1 α ,25-dihydroxyergocalciferol in rachitic chicks and in rats.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 54, 135-139
- RAMBECK, W.A., H. WEISER, W. MEIER, L. LABLER and H. ZUCKER, 1985
Biological activity of the three mono- β -D-Glucopyranosides of 1,25-dihydroxycholecalciferol.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 55, 263-267
- RAMBECK, W.A., H. WEISER and H. ZUCKER, 1986a
Antirachitische Aktivität von Glukosiden des 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ und des 1 α -Hydroxyvitamin D₃ beim Hühnerküken.
Wien. tierärztl. Mschr. 73, 169-171
- RAMBECK, W.A., H. WEISER and H. ZUCKER, 1986b
Biological activity of fluorine-substituted 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in rats, in chicken and in Japanese quails.
Ann. Nutr. Metab. 30, 9-14
- REDDY, C.V. and P.E. SANFORD, 1963
Influence of dietary calcium in laying rations on shell quality and interior quality of eggs.
Poult. Sci. 42, 1302
- RICHARDI, J.D. and T.E. NIGHTINGALE, 1981
Comparison of brachial venous and mixed venous blood gas tensions and pH values in the chicken.
Poult. Sci. 60, 1558-1560
- RILEY, W.W.Jr. and R.E. AUSTIC, 1984
Influence of dietary electrolytes on digestive tract pH and acid-base status of chicks.
Poult. Sci. 63, 2247-2251
- ROLAND, D.A. Sr. and R.H. HARMS, 1973
Calcium metabolism in the hen. 5. Effect of various sources and sizes of calcium carbonate on shell quality.
Poult. Sci. 52, 369-372

- ROLAND, D.A. Sr., D.R. SLOAN and R.H. HARMS, 1972a
Calcium metabolism in the laying hen. 2. Patterns of calcium intake, serum calcium and fecal calcium.
Poult. Sci. 51, 782-787
- ROLAND, D.A. Sr., D.R. SLOAN and R.H. HARMS, 1972b
Calcium metabolism in the laying hen. 3. Patterns of feed (calcium) intake as influenced by time of day and oviposition.
Poult. Sci. 51, 1388-1391
- ROLAND, D.A. Sr., D.R. SLOAN and R.H. HARMS, 1975
The ability of hens to maintain calcium deposition in the egg shell and yolk as the hen ages.
Poult. Sci. 54, 1720-1723
- ROSS, J.G., G. CHRISTIE and R.M. JONES, 1976
Determination of hematology and blood chemistry values in healthy six week old broiler hybrids.
Avian Pathology, 5, 272-281
- ROWLAND, L.O. Jr., D.A. ROLAND, Sr. and R.H. HARMS, 1973
Ascorbic acid as related to tibia strength in spent hens.
Poult. Sci. 52, 347-350
- SALEH, S.Y. and W. JAKSCH, 1977
The effect of stress factors on leucocytic count, glucose and corticoids in chickens.
Zbl. Vet. Med. A 24, 220-228
- SANFORD, P.E. and R.L. ALDER, 1969
Effects of increasing levels of phosphorus with increasing levels of calcium.
Poult. Sci. 48, 1866
- SATTERLEE, D.G., G.F. AMBIRSKI, M.D. Mc INTYRE, M.S. PARKER and L.A. JACOBS-PERRY, 1984
In vitro prostaglandin E₂ stimulation of ⁴⁵Ca mobilisation from chick bone.
Poult. Sci. 63, 633-638
- SCHEIBENHOFFER, R., 1984
Der Ionisationsgrad des Calciums im Blut verschiedener Tierspezies: seine Änderung durch Lagerung unter verschiedenen Bedingungen, den Kohlendioxidpartialdruck, die Wasserstoffionenkonzentration und die Nahrungsaufnahme.
Vet. Med. Diss., München
- SCHELLNER, H.P., 1971
Bestimmung des qualitativen und quantitativen Serumeiweißgehaltes des Huhnes vom Schlupf bis zur 30. Lebenswoche.
Arch. Geflügelk. 3, 128-135

- SCHJEIDE, O.A., M. WILKENS, R.G. McCANDLESS, R. MUNN, M. PETERSON and E. CARLSEN, 1963
Liver synthesis, plasma transport and structural alterations accompanying passage of yolk proteins.
Am. Zool. 3, 167-184
- SCOTT, M.L. S.J. HULL and P.A. MULLENHOFF, 1971
The calcium requirements of laying hens and effects of dietary oystershell upon egg shell quality.
Poult. Sci. 50, 1055-1067
- SIEGEL, H.S. and J.W. LATIMER, 1980
Circadian rhythms for blood components in unrestrained White Rock females.
Poult. Sci. 59, 1662
- SIFRI, M., F.H. KRATZER and L.C. NORRIS, 1977
Lack of effects of ascorbic and citric acids on calcium metabolism of chickens.
J. Nutr. 107, 1484-1492
- SIMKISS, K., 1969
Intracellular pH during calcification; a study of avian shell gland.
Biochem. J. 111, 647-652
- SIMKISS, K., 1970
Sex differences in the acid-base balance of adult and immature fowl.
Comp. biochem. physiol. 34, 777-788
- SIMKISS, K., 1975
Calcium and avian reproduction.
Symp. Zool. Soc. Lond. 35, 307-337
- SLOAN, D.R., D.A. ROLAND, Sr. and R.H. HARMS, 1973
Circadian rhythms in serum calcium of laying hens and the relationship of serum calcium to shell quality.
Poult. Sci. 52, 2086
- SNAPIR, N. and M. PEREK, 1970a
Comparative studies of blood and uterus calcium levels, alkaline phosphatase and carbonic anhydrase activities in White Leghorn and White Plymouth Rock hens, in relation to shell quality and production rate.
Poult. Sci. 49, 37-43
- SNAPIR, N. and M. PEREK, 1970b
Distribution of calcium, carbonic anhydrase and alkaline phosphatase activities in the uterus and isthmus of young and old White Leghorn hens.
Poult. Sci. 49, 1526-1531

- SOMMERVILLE, B.A., 1978
Effect of parathyroid hormone and calcitonin on the calcium and phosphorus levels in the plasma and urine of the chicken.
J. Endocr., 77, 52
- SQUIBB, R.L., 1974
Comparative dynamics of several energy components of chick tissues and their relationship to sampling errors.
Poult. Sci. 53, 667-671
- STURKIE, P.D. and H.J. NEWMAN, 1951
Plasma protein of chickens as influenced by time of laying, ovulation, number of blood samples taken and plasma volume.
Poult. Sci. 30, 240-248
- SULLIVAN, T.W. and M.H. GEHLE, 1962
Effect of ascorbic acid on the serum calcium level in laying hens fed graded levels of dietary calcium.
Poult. Sci. 41, 1016-1017
- SUMMERS, J.D., R. GRANDHI and S. LEESON, 1976
Calcium and phosphorus requirements of the laying hen.
Poutr. Sci. 55, 402-413
- TAHER, A.I., E.W. GLEAVES and M. BECK, 1984
Effect of dietary calcium and estradiol 17β on calcium metabolism in laying hens.
Poult. Sci. 63, 192-193
- TAYLOR, T.G., 1965
Calcium-endocrine relationship in the laying hen.
Proc. Nutr. Soc. 24, 49-54
- TAYLOR, T.G. and F. HERTELENDY, 1961
Changes in blood calcium associated with egg shell calcification in the domestic fowl. 2. Changes in the diffusible calcium.
Poult. Sci. 40, 115-122
- TAYLOR, T.G., K. SIMKISS and D.A. STRINGER, 1971
The skeleton: Its structure and metabolism.
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl; eds. BELL and FREEMAN. Academic Press, London, New York, Vol. 2, 621-640
- THODE, J., N. FOGH-ANDERSEN, P.D. WIMBERLEY, A. MOLLER, R. SORENSEN and O. SIGGAARD-ANDERSEN, 1983
Relation between pH and ionized calcium in vitro and in vivo in man.
Scand. J. Clin. Lab. Inv. 43, Suppl. 165, 79-82
- URIST, M.R., N.M. DEUTSCH, G. POMERANTZ and F.C. McLEAN, 1960
Interrelations between actions of parathyroid hormone and estrogens on blood and bone in avian species.
Am. J. Physiol. 199, 851-855

- URIST, M.R., O.A. SCHJEIDE and F.C. McLEAN, 1958
The partition and binding of calcium in the serum of the laying hen and of the estrogenized rooster.
Endocrinol. 63, 570-585
- VERMA, D.M., Y.S. RAWAT and M.D. PANDEY, 1975
Effect of age and sex on the serum proteins of the white leghorn birds.
Ind. Vet. J. 52, 544-546
- VOGT, H. und S. HARNISCH, 1983
Versuche über den Einfluß einer Änderung des Säure-Basen-Verhältnisses im Futter auf die Eischalenstabilität.
Arch. Geflügelk. 47, 233-239
- VUILLAUME, A., 1983
A new technique for taking blood samples from ducks and geese.
Avian Pathology 12, 389-391
- WACHTER, H. and H. SCHRÖCKSNADEL, 1965
Die Serumproteine beim Huhn unter Berücksichtigung von Rasse, Geschlecht und Alter.
Acta biol. med. Germ. 15, 138-143
- WARD, M.A. and R.A. PETERSON, 1973
The effect of heat exposure on plasma uric acid, lactate dehydrogenase, chloride, total protein and zinc of the broiler.
Poult. Sci. 52, 1671-1673
- WHITEHEAD, C.C., W.A. DEWAR and J.N. DROWNIE, 1971
Effect of dietary fat on mineral retention in the chick.
Br. Poult. Sci. 12, 249-254
- WHITTOW, G.C., P.D. STURKIE and G. STEIN, Jr., 1965
Cardiovascular changes in restrained chickens.
Poult. Sci. 44, 1452-1459
- WIDEMAN, R.F.Jr. and E.G. BUSS, 1985a
Percent shell and plasma mineral concentrations in three strains of domestic fowl selected for thick or thin egg shell production.
Poult. Sci. 64, 388-395
- WIDEMAN, R.F.Jr. and E.G. BUSS, 1985b
Arterial blood gas, pH, and bicarbonate values in laying hens selected for thick or thin eggshell production.
Poult. Sci. 64, 1015-1019
- WILSON, S.C. and P.J. SHARP, 1975a
Changes in plasma concentrations of LH after injection of progesterone at various times during the ovulation cycle of the domestic hen (*Gallus domesticus*).
J. Endocrinol. 67, 59-70

- WILSON, S.C. and P.J. SHARP, 1975b
Episodic release of luteinizing hormone in the domestic fowl.
J. Endocrinol. 64, 77-86
- WINGET, C.M. and A.H. SMITH, 1958
Changes in plasma calcium concentration during egg formation.
Poult. Sci. 37, 509-512
- WINGET, C.M. and A.H. SMITH, 1959
Dissociation of the calcium-protein complex of laying hen's plasma.
Am. J. Physiol. 196, 371-374
- WINGET, C.M., A.H. SMITH and G.N. HOOVER, 1958
Arterio-venous differences in plasma calcium concentration in the shell gland of laying hen during shell formation.
Poult. Sci. 37, 1325-1328
- WINKLER, C., W.A. RAMBECK, W.E. KOLLMER und H. ZUCKER, 1984
Der Einfluß der Calcium-, Phosphor- und Vitamin D-Zufuhr auf die Cadmium-Retention in Leber und Nieren beim wachsenden Huhn.
Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkd. 51, 250-256
- WORMUTH, H.I., I. SCHÜTT and N. LAGONI, 1980
Simple method of blood sampling from hens.
Berl. Münch. tierärztl. Ws. 93 (24), 494-496
- WYBENGA, D.R., F.A. ABBOTT and D.C. CANNON, 1976
Determination of ionized calcium in serum that has been exposed to air.
Clin. Chem. 22, 1009-1011
- ZEIGLER, R., M. TELIB and E.F. PFEIFFER, 1969
The secretion of calcitonin by the perfused ultimobranchial gland of the hen.
Horm. metab. Res. 1, 39-40
- ZIMMERMANN, N.G. and A.S. DHILLON, 1984
Blood sampling from the venous occipital sinus of birds.
Poult. Sci. 63, 211

Herrn Prof. Dr. M. Merkschlager und Herrn Dr. Dr. Dr. med. vet. habil. K. Kölling danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung und der Anfertigung dieser Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. W. Vogt, Vorstand des Institutes für Klinische Chemie am Deutschen Herzzentrum München, und seinen Mitarbeitern für die Unterstützung und Ermöglichung der Analysen von Gesamtcalcium und Gesamtprotein.

Ebenso danke ich allen Mitarbeitern des Labors, besonders Herrn Dr. P. Schmidt, für die stete Hilfsbereitschaft.

Herrn F. Bader - Fa. Radiometer - danke ich für die Bereitstellung der apparativen Ausrüstung zur Bestimmung von ionisiertem Calcium und Säure-Basen-Status.

LEBENS LAUF

Anneliese Hofmeier

16.3.1957	geboren in München Vater: Fritz Hofmeier, Dipl.-Ing. Mutter: Auguste Hofmeier, geb. Schweigert
1963 - 1967	Besuch der Volksschule in München
1967 - 1976	Besuch des Thomas-Mann-Gymnasiums, München
25.6.1976	Abitur
1977 - 1978	Ausbildung als Tierarzthelferin
1978 - 1980	Pre-veterinary-medicine-Studium an der University of Calgary, Canada
WS 1980/81- SS 1981	Studium der Tiermedizin an der Freien Universität Berlin
WS 1981/82- SS 1985	Studium der Tiermedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München
5.8.1985	Staatsexamen
28.1.1986	Approbation als Tierärztin
1985	Beginn der Arbeiten zu der vorliegenden Dissertation am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungs- physiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

